

# PROSIDING

ISSN: 2339-2592

SEMINAR NASIONAL & WORKSHOP

PERKEMBANGAN  
TERKINI

Sains Farmasi  
dan Klinik

## “Pelayanan Kefarmasian & Herbal Medicine”

Padang, 4-5 Oktober 2013



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS  
IKATAN APOTEKER INDONESIA - SUMATERA BARAT

# **PELAYANAN KEFARMASIAN DAN HERBAL MEDICINE**

**PROSIDING**

**Seminar Nasional dan Workshop  
Perkembangan Terkini Sains Farmasi Dan Klinik III**

**Padang, 4-5 Oktober 2013**

**ISSN: 2339-2592**

**Editor:**

Yori Yuliandra, M.Farm, Apt  
Rini Agustin, M.Si, Apt  
Rahmi Yosmar, M.Farm, Apt

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS ANDALAS**

## DAFTAR ISI

		Hal
1	Formulasi Sediaan Chewable Lozenges Ekstrak Tanaman Jahe ( <i>Zingiber officinale</i> rosc.) yang Diintroduksi Fungi Mikoriza Arbuskula <i>Andi Arfan Harahap</i>	1
2	Evaluasi Penggunaan Antibiotika pada Suatu Rumah Sakit Pemerintah di Kota Padang <i>Dedy Almasdy</i>	7
3	Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Temulawak ( <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) dengan Gelatin Sebagai Pengikat <i>Deni Noviza</i>	16
4	Pengaruh Pemberian Vanadyl Sulfat Dengan Kromium (III) Klorida Dalam Bentuk Tunggal Dan Kombinasi Terhadap Kadar Glukosa Serum Darah Mencit Putih Yang Diinduksi Deksamethason <i>Dwisari Dillasamola</i>	21
5	Optimasi Nanoemulsi Minyak Kelapa Sawit (Palm Oil) Menggunakan Sukrosa Monoester <i>Elfi Sahlan Ben</i>	31
6	Pengaruh Ekstrak Daun Jati ( <i>Tectona grandis</i> L.F) Terhadap Fungsi Hati dan Fungsi Ginjal pada Mencit Putih Jantan <i>Elisma</i>	63
7	Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47d dengan Metoda MTT <i>Fajar Yonny Ilhami</i>	71
8	Kajian Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47d dengan Metoda Microtetrazolium (MTT) <i>Fatma Sri Wahyuni</i>	78
9	Identifikasi Gen Babi pada Marshmallow Menggunakan Kit Olipro dalam Teknik PCR dan Southern Hybridization pada Chip <i>Hefi Kurnia Sari</i>	88
10	Pengaruh Persepsi Kepala Keluarga Mengenai Kekambuhan Pasien Gangguan Jiwa Berat Terhadap Kepatuhan dalam Meminum Obat Secara Teratur (Survey Terhadap Keluarga Pasien Rawat Jalan yang Berkunjung ke Rumah Sakit Jiwa Provinsi Jawa Barat) <i>James Bertinus Sembiring</i>	93
11	Pengembangan Metode PCR dan Southern Hybridization untuk Deteksi Gen Babi pada Cangkang Kapsul <i>Marlina</i>	116
12	Penggunaan Amilum Umbi Suweg ( <i>Amorphophallus campanulatus</i> BI. Decne) Sebagai Pengikat Tablet Ibuprofen dengan Metode Granulasi Basah. <i>Nelly Suryani</i>	122
13	Pengembangan Antibodi Monoklonal Terhadap Antigen Spesifik <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Sebagai Kandidat Diagnosis Tuberkulosis Melalui Sputum <i>Netti Suharti</i>	128

14	Uji Imunomodulator Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Meniran ( <i>Phyllanthus Niruri</i> L.) pada Mencit Putih Jantan dengan Metoda Carbon Clearance <i>Nisya Ogiana</i>	134
15	Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Data Urin Menggunakan Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan Fungsi Ginjal Stadium IV <i>Putri Siska Oviadita</i>	148
16	Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Data Urin Menggunakan Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan Fungsi Ginjal Stadium V <i>Resta Andria</i>	163
17	Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Encok ( <i>Plumbago zeylanica</i> l.) dalam Pengobatan Nyeri Sendi pada Tikus Putih Jantan <i>Ria Afrianti</i>	176
18	Formulasi Krim Tabir Surya Dari Kombinasi Etil P – Metoksisinamat dengan Katekin <i>Rini Agustin</i>	184
19	Efek Kurkuma Terhadap Kadar Alanine Aminotransferase pada Pemakaian Obat Anti Tuberkulosa di Poliklinik Anak RSUD Arifin Achmad Propinsi Riau <i>Rita Agustin</i>	199
20	Efek Anti-Inflamasi dan Anti-Diare Ekstrak Etanol Herba Meniran ( <i>Phyllanthus niruri</i> L.) dan Daun Ungu ( <i>Garptophyllum pictum</i> L. Griff) <i>Ros Sumarny</i>	207
21	Uji Sensitivitas Isolat Bakteri dari Pasien Luka Bakar di Bangsal Luka Bakar RSUP Dr. M. Djamil Padang <i>Rustini</i>	212
22	Aktivitas Proteksi Fraksi Etil Asetat Daun Surian ( <i>Toona sureni</i> Bl Merr.) Terhadap Disfungsi Sel Endotel Tikus Hiperkholesterolemia <i>Suhatri</i>	221
23	Konstruksi Primer untuk Deteksi SNP RS12255372 pada Gen Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) Penyebab Diabetes Melitus Tipe-2 dengan Metode <i>Amplification Refractory Mutation System</i> (ARMS) – PCR <i>Syamsurizal</i>	228
24	Penyiapan Radioimunokonjugat <sup>177</sup> Lu-DOTA-PAMAM G3- Nimotuzumab untuk Radioimunoterapi Kanker <i>Vanji Ikhsan Azis</i>	238
25	Evaluasi Pengelolaan Obat dan Strategi Perbaikan dengan Metode Hanlon di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Umum Daerah Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara Tahun 2012 <i>Wirdah Wati Renfan.</i>	247
26	Gambir Terstandar Memperbaiki Fungsi Ginjal Tikus Gagal Ginjal yang Diinduksi Gliserol dan L-NAME <i>Yona Harianti Putri</i>	258
27	Studi Efek Antihipertensi Tumbuhan Tali Putri ( <i>Cassytha filiformis</i> L.) pada Tikus Hipertensi yang Diinduksi Prednison dan Garam <i>Yori Yuliandra</i>	264

28	Uji Aktivitas Beberapa Subfraksi Ekstrak Etil Asetat dari Herba Meniran ( <i>Phyllanthus niruri</i> Linn.) Terhadap Titer Antibodi dan Jumlah Sel Leukosit pada Mencit Putih Jantan <i>Yufri Aldi</i>	271
29	Evaluasi Penggunaan Kombinasi <i>Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor</i> dengan Furosemid Terhadap Fungsi Ginjal Pasien Gagal Jantung Kongestif di RSUP Dr. M. Djamil Padang <i>Surya Dharma</i>	279
30	Studi Preformulasi Peningkatan Sifat Kelarutan Sulfametoksazol Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi Dengan B-Siklodekstrin Menggunakan Metode <i>Co-Grinding</i> <i>Syofyan</i>	284
31	Pengaruh Fraksi Air Herba Seledri ( <i>Apium graveolens</i> L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Mencit Putih Jantan Hiperkolesterol <i>Meydiza Fahrefi</i>	293
32	Analisis Kadar Kofein dari Sediaan Kopi Instan dengan Metode TLC-Scanner (Densitometri) <i>Lilik Rahayu Wulandari</i>	305
33	Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara ( <i>Catharantus Roseus</i> L) Terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Mencit Putih Jantan <i>Surya Dharma</i>	311
34	Pengaruh Perilaku Kerja, Lingkungan Kerja, dan Interaksi Sosial Terhadap Kepuasan Kerja dengan Motivasi Sebagai Variabel Pemediasi (Studi pada Staf Rumah Sakit Umum Daerah Pandan Arang Boyolali) <i>Astri Aslam</i>	316
35	Formulasi Mikrokapsul Glikuidon Menggunakan Penyalut Etil Selulosa dengan Metode Emulsifikasi Penguapan Pelarut <i>Febriyenti</i>	324
36	Pengembangan Sediaan Eksfolian dan Uji Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella ( <i>Hibiscus Sabdariffa</i> L.) dalam Upaya Melawan Radikal Bebas <i>Endang Lukitaningsih</i>	337
37	Efek Diuretik dan Daya Larut Batu Ginjal dari Ekstrak Etanol Rambut Jagung ( <i>Zea mays</i> L.) <i>Nessa</i>	345
38	Kajian Profil Metabolit Minyak Atsiri Tanaman Jahe Putih Besar ( <i>Zingiber officinale</i> Rosc.) Yang Diintroduksi Fungi Mikoriza Arbuskula <i>Netty Suharti, Dachriyanus, Abdul Syahriandi</i>	359

## FORMULASI SEDIAAN CHEWABLE LOZENGES EKSTRAK TANAMAN JAHE (*Zingiber officinale* Rosc.) YANG DIINTRODUKSI FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA

Andi Arfan Harahap, Henny Lucida, Netty Suharti  
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang formulasi sediaan *chewable lozenges* ekstrak tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) yang diintroduksi fungi mikoriza arbuskula (FMA), berdasarkan aktivitas *gingerol* sebagai antibakteri yang dikandungnya (Bone *et. al*, 1990). Sediaan ini memiliki kelebihan diantaranya lebih mudah penggunaannya, tahan lama, menarik serta praktis dalam pemakaiannya. Penggunaan jahe yang diintroduksi FMA berhubungan dengan pengaruh FMA dalam meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder (Suharti, 2010) dan khasiat yang lebih optimal dibandingkan jahe yang diperoleh di pasaran. Sediaan dibuat tiga formula dengan variasi konsentrasi gelatin: gliserin yaitu Formula I (15%: 75%), Formula II (20%: 70%), dan Formula III (25%: 65%). Parameter yang diuji meliputi warna, kecerahan, tekstur permukaan, penampilan fisik, konsistensi sediaan, dan waktu larut, serta respon penerimaan konsumen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi gelatin gliserin mempengaruhi profil sifat fisik sediaan. Meningkatnya konsentrasi gelatin dan menurunnya konsentrasi diikuti dengan menurunnya kecerahan, meningkatnya tekstur permukaan, meningkatnya konsistensi, dan meningkatnya waktu larut (Sig. < 0,05). Hasil uji tanggapan rasa dan kesukaan terhadap 20 responden menunjukkan bahwa Formula II sebagai formula yang paling disukai.

**Kata kunci:** *Zingiber officinale*, *Chewable Lozenges*, Fungi Mikoriza arbuskula

### PENDAHULUAN

Tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc) telah digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional, diantaranya *dyspepsia*, *flatulen*, *kolik*, diare, *spasme*, dan gangguan lambung lainnya (Anonim, 1993). Serbuk jahe juga digunakan dalam pengobatan batuk dan flu, merangsang nafsu makan (Kapoor, 1990), migrain, rematik, dan gangguan otot (Ghazanfar, 1994).

Tanaman jahe yang diintroduksi fungi mikoriza arbuskula mengandung senyawa metabolit sekunder yang tinggi (Suharti, 2010), termasuk senyawa *gingerol* yang memiliki aktivitas antibakteri (Bone *et. al*, 1990). Berdasarkan hal ini, perlu dibuat sediaan yang dapat melepaskan zat aktifnya

langsung di dalam mulut atau tenggorokan, mudah penggunaannya, tahan lama, menarik, serta praktis dalam pemakaiannya, yaitu sediaan tablet jenis *chewable lozenges*.

*Chewable lozenges* merupakan salah satu jenis tablet yang dibuat dengan metoda peleburan (*molded lozenges*) (Allen, 2002). Bentuk dan rasanya lebih disukai karena lebih mudah dalam penyimpanan dan penggunaan, sangat menguntungkan bagi konsumen yang kesulitan dalam menelan, karena cukup mengulum sediaan secara perlahan serta tidak diperlukan air minum (Sesella, 2010).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat: seperangkat alat maserai, *rotary evaporator*, timbangan analitik, oven listrik, desikator, *Furnace* (Carbolite, England), cetakan *chewable lozenges*, *water bath* (Memmert), *Hot Plate Magnetic Stirrer*, *colour chart*, chamber KLT, dan plat silika gel GF<sub>254</sub>.

Bahan-bahan: rimpang tanaman jahe putih besar (*Zingiber officinale* Rosc.) berumur sembilan bulan yang telah diintroduksi FMA, etanol 96%, aquadest, gelatin (Gelita, Australia), gliserin, sukrosa, mannitol (SPI Pharma, China), methylparaben (Rasula, India), n-hexane, dietil eter, dan reagen Follin- Ciaocalteu.

### Prosedur Kerja

#### Ekstraksi

Rimpang jahe berumur sembilan bulan yang telah dirajang halus dimasukkan ke dalam beberapa wadah gelas berwarna

gelap dan dimaserasi dengan etanol 96% selama lima hari sambil sekali-sekali diaduk. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil maserasi diuapkan pelarutnya dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental bebas etanol (Anonim, 2000). Ekstrak yang diperoleh dievaluasi, meliputi parameter spesifik, yaitu identitas dan organoleptis (bentuk, warna, bau, dan rasa), sedangkan parameter nonspesifik meliputi kadar abu, susut pengeringan, dan penentuan rendemen.

#### Formulasi Sediaan

*Chewable lozenges* ekstrak jahe dibuat dalam tiga formula dengan variasi konsentrasi gelatin dan gliserin yang diharapkan mampu menghasilkan *lozenges* dengan sifat fisik yang baik. Komposisi masing-masing formula untuk seluruh *lozenges* adalah seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1. Formula sediaan *chewable lozenges***

Komposisi	Formula I	Formula II	Formula III
Ekstrak kental jahe (g)	1	1	1
Sukrosa (g)	7	7	7
Manitol (g)	4	4	4
Methylparaben (mg)	80	80	80
GELATIN BASE (g)	40	40	40
Gelatin (%)	15	20	25
Gliserin (%)	75	70	65
Aquadest (%)	10	10	10
Total <i>Lozenges</i>	70 buah	70 buah	70 buah

#### Proses Pembuatan Formula

Masing-masing bahan ditimbang kemudian *aquadest* dipanaskan hingga mendidih. Gelatin dituang kedalam wadah dan direndam dengan *aquadest* mendidih sebanyak yang dikehendaki. Campuran

*gelatin* dan *aquadest* didiamkan 15 menit hingga mengembang. Gliserin dimasukkan sedikit demi sedikit dan diaduk sambil dipanaskan di atas *waterbath* hingga semua gelatin bercampur dengan gliserin, selanjutnya ditambahkan sisa gliserin

perlahan sambil diaduk sampai tercampur rata dan bebas dari gumpalan. Basis ini dipanaskan lagi selama 45 menit, lalu dimasukkan *metylparaben* dan diaduk hingga larut. Sukrosa dimasukkan lalu diaduk hingga terlarut, diikuti manitol. Ekstrak jahe

ditambahkan terakhir, diaduk hingga tercampur rata. Adonan dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan hingga dingin. Jika adonan membeku saat dituangkan, maka dapat dipanaskan lagi dan dituang kembali.

## HASIL DAN DISKUSI

### Pemeriksaan Bahan Baku Ekstrak Jahe

Pemeriksaan organoleptis ekstrak jahe menunjukkan konsistensi kental, warna

coklat tua, bau spesifik, dan rasa pedas. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Data Karakteristik Ekstrak Kental Jahe**

Karakteristik	Hasil	Persyaratan	Keterangan
Bentuk	Kental	Kental	Sesuai
Warna	Coklat tua	Coklat tua	Sesuai
Rasa	Pedas	Pedas	Sesuai
Bau	Spesifik	Spesifik	Sesuai
Kadar Abu	8,16%	8%	Tidak sesuai
Susut Pengeringan	10,64%		
Rendemen	2,92%		

Analisis kualitatif terhadap ekstrak jahe dilakukan dengan menggunakan eluen n-hexan dan dietil eter dengan perbandingan 7:3 serta plat silika gel 60 GF<sub>254</sub> yang mengandung indikator fluorosensi. Hasil analisis menunjukkan beberapa bercak pada plat KLT setelah disemprotkan reagen Folin-Ciocalteu. Menurut literatur, harga Rf gingerol adalah berkisar antara 0,2-0,24 (Wikandari, 1994) atau antara 0,15-0,22 (Chen *et. al*, 1986). Hal ini tidak jauh berbeda dengan harga Rf yang diperoleh, yakni 0,225 (Tabel 3).

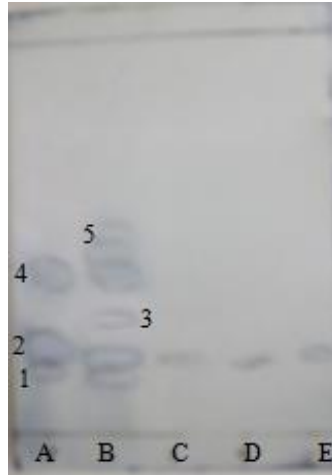
### Pemeriksaan Sediaan *Chewable lozenges* Ekstrak Jahe

### Pemeriksaan Senyawa Gingerol dengan Metoda KLT

Analisis kualitatif dengan metode KLT dilakukan untuk membandingkan kandungan kimia ekstrak jahe (bahan baku)

dengan ekstrak jahe di dalam sediaan, khususnya senyawa gingerol. A, B, C, D, dan E (Gambar 1) secara berturut-turut adalah fraksi etanol ekstrak jahe, fraksi heksan ekstrak jahe, formula I, formula II, dan formula III. Plat kromatografi menunjukkan adanya noda dengan intensitas yang kurang jelas. Hal ini disebabkan karena konsentrasi ekstrak jahe di dalam sampel C, D, dan E sangat kecil dibandingkan konsentrasi ekstrak di dalam sampel A dan sampel B. Menurut Grosch (1999) dan Purseglove *et.al* (1981) senyawa gingerol merupakan senyawa yang mudah teroksidasi menjadi senyawa shogaol pada saat pengolahan dan penyimpanan jahe, sehingga diperkirakan bahwa proses formulasi (pemanasan) dan penyimpanan telah mengurangi beberapa kandungan ekstrak jahe di dalam sediaan, termasuk senyawa gingerol.





Gambar 1. Pola KLT Ekstrak Jahe dan Sediaan *Chewable Lozenges* Ekstrak Tanaman Jahe yang Diintroduksi FMA

**Tabel 3. Perbandingan Nilai Rf Senyawa *gingerol* Hasil Analisis KLT dan Referensi**

Noda ke-	Nilai Rf						
	Sampel					Referensi <sup>(1)</sup>	Referensi <sup>(2)</sup>
	A	B	C	D	E		
1	0,17	0,17	-	-	-		
2 (gingerol)	0,24	0,225	0,192	0,192	0,22	0,20 – 0,24	0,15 – 0,22
3	-	0,32	-	-	-		
4	0,45	0,45	-	-	-		
5	-	0,53	-	-	-		

(1) Wikandari (1994)

(2) Chen *et al.* (1986)

### Pemeriksaan Sifat Fisik Sediaan

Hasil evaluasi sifat fisik sediaan dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini:

**Tabel 4. Hasil Evaluasi Sediaan *Chewable Lozenges* Ekstrak Jahe yang Diintroduksi Fungi Mikoriza Arbuskula**

Parameter Uji	Formula I	Formula II	Formula III
Warna produk	996600	CC9900	FF9900
Tingkatan kecerahan produk	Cerah	Agak cerah	Agak suram
Tekstur permukaan	Agak lembut	Agak lembut	Agak kasar
Penampilan fisik	Agak lembab	Agak kering	Agak kering
Konsistensi sediaan	Kenyal	Agak kenyal	Agak keras
Keseragaman bobot (mg)	(750,31 ± 3,524)	(750,335 ± 4,903)	(750,33 ± 5.18)
Berat jenis spesifik (g/ml)	(1,072 ± 0,005)	(1,089 ± 0,049)	(1,0807 ± 0,035)
Uji waktu larut	2,97 ± 0,69	4,12 ± 0,55	5,23 ± 0,5

Pada evaluasi keseragaman bobot, setelah dikorelasikan bobot masing-masing tablet dengan bobot rata-rata tablet, didapat hasil yang memenuhi persyaratan pada Farmakope. Pada evaluasi waktu larut, nilai yang didapatkan menunjukkan nilai yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 30 menit (Allen, 2002). Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin

*Procedure on Performing Quality Assessment of Lozenges and Lollipops*" (Allen, 2002). Untuk uji warna, digunakan alat bantu berupa *colour chart* sebagai acuan untuk menyeragamkan persepsi responden tentang warna. Berdasarkan perhitungan jumlah skor akhir (*hedonic test*) didapatkan bahwa Formula I dikategorikan cerah, Formula II agak cerah, dan Formula III agak suram. Hasil uji ANOVA satu arah menunjukkan bahwa konsentrasi gelatin-gliserin mempengaruhi kecerahan produk secara bermakna ( $P < 0,05$ ). Hasil uji lanjut dengan metoda Duncan menunjukkan bahwa ketiga formula berbeda secara nyata.

Pemeriksaan pada tekstur permukaan didapat bahwa Formula I dan Formula II dikategorikan agak lembut, sedangkan permukaan Formula III dikategorikan agak kasar. Hasil uji ANOVA satu arah menunjukkan bahwa perlakuan formulasi mempengaruhi tekstur permukaan secara bermakna, dimana semakin bertambah

Formula yang paling disukai oleh responden adalah Formula II, karena:

- a) Tidak terlalu pedas
- b) Rasanya lebih enak
- c) Lebih manis
- d) Bentuknya bagus, lebih kenyal
- e) Warnanya lebih bagus
- f) Tidak terlalu pahit
- g) Jahenya lebih terasa ketika sudah dikunyah
- h) Tidak keras dan tidak terlalu lembek

Alasan responden tidak menyukai formula I adalah karena:

terhadap waktu larut memiliki pengaruh yang signifikan terhadap waktu larut ( $p < 0,05$ ).

Uji warna dan kecerahan, tekstur permukaan, penampilan fisik, konsistensi sediaan, serta tanggapan rasa dilakukan dengan metoda *consumer preference test* yang mengacu pada "Standard Operating

konsentrasi gelatin menyebabkan sediaan menjadi lebih kasar.

Dengan menggunakan metode yang sama (*hedonic test*), uji penampilan fisik didapat bahwa Formula I dikategorikan agak lembab, sedangkan Formula II dan Formula III agak kering. Namun hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan formulasi tidak mempengaruhi penampilan fisik secara bermakna ( $\text{Sig} > 0,05$ ). Artinya, menurut responden konsentrasi gelatine dan gliserin tidak berpengaruh nyata terhadap lembab atau keringnya sediaan.

Pengujian selanjutnya adalah konsistensi sediaan. Berdasarkan perhitungan skor akhir disimpulkan bahwa formula I memiliki konsistensi yang kenyal, Formula II memiliki konsistensi yang agak kenyal, dan Formula III memiliki konsistensi yang agak keras. Hal ini tidak lepas dari pengaruh peningkatan konsentrasi gelatin, dimana perlakuan (formulasi) mempengaruhi konsistensi secara bermakna ( $\text{Sig} < 0,05$ ).

- a) Sangat pedas dan terasa langsung pedasnya saat pertama kali mengunyah
- b) Pahit

Alasan responden tidak menyukai formula III adalah:

- a) Permukaannya kasar
- b) Terlalu pedas, menyengat, tidak berasa manis
- c) Lebih keras dibandingkan formula yang lain

## KESIMPULAN

1. Proses pemanasan dan penyimpanan diduga mempengaruhi kandungan kimia

ekstrak di dalam sediaan *chewable lozenges*.

2. Peningkatan konsentrasi gelatin dan penurunan konsentrasi gliserin mempengaruhi tampilan fisik (kecerahan, tekstur permukaan, konsistensi), serta waktu larut dari sediaan.
3. Hasil uji tanggapan rasa dan kesukaan responden lebih banyak memilih formula II sebagai formula yang paling disukai

## DAFTAR PUSTAKA

- Allen, Loyd V. 2002. *The art, science, and technology of pharmaceutical compounding*. Washington, D.C: American Pharmaceutical Association.
- Bone, M. E., Wilkinson, D. J., Young, J. R., McNeil, J., and Charlton, S. 1990. Ginger root: A new anti-emetic, the effect of ginger root or postoperative nausea and vomiting after major gynaecological surgery. *Anaesthesia*, 45, 669-671.
- Chen, C., C.K. May and C.T. Ho. 1986. High performance liquid chromatographic determination of pungent gingerol compound of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J. of Food Sci*, 51 (12): 1364-1365.
- Gritter, R.J., Bobbitt, J.M., Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar kromatografi* (edisi ke-2). Penerjemah: Padmawinata, K., Soediro, I. Bandung: ITB.
- Kapoor, LD. 1990. *Handbook of Ayurvedic medicinal plants*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Purseglove, J.W., E. G. Brown, C.L. Green and S.R.J. Robbins. 1981. *Ginger spices*. Vol 2. Longman, London and New York.
- Sesella, Alisa Dian. 2010. *Formulasi sediaan chewable lozenges yang mengandung ekstrak kemangi (Ocimum sanctum L.)*(Skripsi). Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Suharti, Netty. 2010. *Interaksi rizobakteria dan fungi mikoriza arbuskula indigenus dalam menginduksi ketahanan tanaman jahe terhadap Rastonia solanacerum ras 4 serta peningkatan senyawa metabolit sekunder* (Disertasi). Program Pasca Sarjana Universitas Andalas Padang.
- World Health Organization. 1999. *WHO Monographs on selected medicinal plants* Volume 1. Geneva: World Health Organization.
- Yamahara, J., Mochizuki, M., Huang, Q.R., Matsuda, H. and Fujimura, H. 1988. The anti-ulcer effect in rats of ginger constituents. *J. Ethnopharmacology* 23(2-3): 299-304.
- Yoshikawa, M., Yamaguchi, S., Kunimi, K., Matsuda, H., Okuno, Y., Yamahara, J. and Mukarami, N. 1994. Stomach-ache principles in ginger III: An anti-ulcer principle, 6-gingersulfonic acid, and three monoacyldigalactosylglycerols, gingerglycolipids A, B, and C, from zingiberis rhizoma originating in Taiwan. *Chem. Pharm. Bull.*, 42(6): 1226-30.
- Zachariah, T. John. 2008. *Chemistry of spices*. India: CAB International

## **EVALUASI PENGGUNAAN ANTIBIOTIKA PADA SUATU RUMAH SAKIT PEMERINTAH DI KOTA PADANG**

Dedy Almasdy, Deswinar dan Helen

### **ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian untuk mengevaluasi kerasionalan penggunaan antibiotik pada suatu rumah sakit pemerintah di Kota Padang. Penelitian ini berupa penelitian deskriptif dengan menggunakan data retrospektif, dilakukan terhadap penderita bronkopneumonia di Instalasi Rawat Inap (IRNA) Ilmu Kesehatan Anak. Evaluasi didasarkan pada kriteria yang telah ditetapkan terlebih dahulu dengan menggunakan acuan standar terhadap indikasi, dosis, lama pemberian, serta adanya duplikasi penggunaan. Hasil penelitian menunjukkan adanya ketidaktepatan dosis kloramfenikol (4,65%) dan gentamisin (16,66%); ketidaktepatan lama pemberian sefotaksim, amoksisilin, gentamisin, ampicilin, dan kloramfenikol, masing-masingnya sebesar 50%, 30.95%, 22.22%, 18.92%, dan 6.98%; adanya duplikasi terapi (2,52%), serta adanya interaksi farmakokinetik (45,54%) dan interaksi farmakodinamik (53,16%).

**Kata kunci:** antibiotika, evaluasi penggunaan obat, farmasi klinik, Padang

### **PENDAHULUAN**

Penyakit infeksi merupakan menempati penyakit yang menempati urutan teratas yang menyerang penduduk negara berkembang, termasuk Indonesia. Menurut laporan WHO tahun 1997, sebanyak 17 juta orang meninggal pertahunnya akibat penyakit ini, 9 juta diantaranya adalah anak-anak yang meninggal karena diare dan pneumonia (Watimena, 1991).

Salah satu kelompok obat-obatan yang digunakan dalam penanganan penyakit infeksi secara medis adalah antibiotika. Dewasa ini, seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang farmasi, telah dikembangkan berbagai jenis antibiotika. Produksi antibiotika yang meningkat menyebabkan banyaknya jumlah antibiotika yang beredar di pasaran dengan mutu yang beragam (Depkes, 1992).

Persoalan utama dalam penggunaan antibiotik adalah penggunaan obat yang tidak rasional. Penggunaan obat yang tidak rasional merupakan salah satu masalah

kesehatan di Indonesia. Hal tersebut tidak hanya menimbulkan efek yang merugikan secara klinik, tapi juga pemborosan dari aspek pembiayaan kesehatan (Arustyono, 1999).

Untuk menjamin mutu obat yang beredar di rumah sakit dilaksanakan berbagai program, salah satu diantaranya adalah evaluasi penggunaan obat (EPO). Program Evaluasi Penggunaan Obat (EPO) merupakan suatu proses jaminan mutu yang terstruktur, yang dilakukan secara terus menerus dan secara organisasi diakui serta ditujukan untuk menjamin agar obat-obatan digunakan secara tepat, aman dan efektif. Salah satu unsur utama dari EPO adalah pemantauan yang sistematis, terencana dan terus menerus, serta analisis penggunaan obat yang sebenarnya untuk mencari solusi masalah yang timbul di rumah sakit dengan menggunakan kriteria yang dapat diukur dan objektif. Pemantauan ini dapat dilakukan secara konkuren, retrospektif maupun prospektif (ASHP, 1988 dan Hicks, 1994).

Penelitian ini merupakan bagian dari evaluasi penggunaan obat, bertujuan untuk mengevaluasi ketepatan penggunaan antibiotika di IRNA Ilmu Kesehatan Anak salah satu rumah sakit pemerintah di kota Padang – Sumatera Barat. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar tindakan perbaikan dan merupakan masukan dalam

penetapan panduan penggunaan serta pengembangan kebijakan penggunaan antibiotika secara institusional maupun nasional. Selain itu penelitian ini juga dapat memberikan manfaat dalam penyusunan program pendidikan bagi tenaga dan mahasiswa kesehatan.

## **METODA PENELITIAN**

### **1. Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan menggunakan data retrospektif, yaitu data penggunaan antibiotika pada penderita bronkopneumonia yang dirawat pada IRNA Ilmu Kesehatan Anak di salah satu rumah sakit pemerintah di Kota Padang – Sumatera Barat.

### **2. Data dan Sumber Data**

Data yang dikumpulkan meliputi; indikasi, dosis, lama pemberian, adanya duplikasi terapi dan interaksi obat. Sedangkan sumber data yang digunakan adalah catatan medis dari seluruh penderita Bronkopneumonia yang dirawat pada IRNA Ilmu Kesehatan Anak. Selain itu data juga diambil dari catatan perawat dan resep yang ditulis oleh dokter dan data pendukung lainnya

### **3. Prosedur Penelitian**

#### **a. Penetapan penderita**

Penderita yang dipilih adalah penderita bronkopneumonia. Pemilihan penderita bronkopneumonia adalah karena berdasarkan literatur dan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan, penyakit ini termasuk 10 penyakit terbanyak. Selain itu penyakit ini juga merupakan penyakit dengan morbiditas yang tinggi pada anak-anak (Kligman, 2000).

#### **b. Pengembangan kriteria penggunaan obat.**

Kriteria penggunaan obat yang digunakan sebagai tolok ukur untuk menilai ketepatan penggunaan obat dikembangkan dari Pedoman Diagnosa dan Terapi (PDT) dan Formularium Rumah Sakit (FRS). Selain itu juga digunakan, Pedoman Penggunaan Antibiotika Nasional (PPAN) dan pustaka-pustaka resmi lain yang terbaru.

#### **c. Pengumpulan data**

Data dikumpulkan dengan menggunakan lembar pengumpul data. Semua data penggunaan obat dan data lain yang berkaitan dengan penggunaan obat, dicatat kembali pada lembar data secara tepat dan lengkap tanpa penambahan atau pengurangan. Lembaran data ini selanjutnya menjadi dokumentasi penelitian.

#### **e. Analisa Data**

Data yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan standar penggunaan obat yang telah dikembangkan untuk menetapkan ketepatan penggunaan obat. Ketepatan tersebut meliputi; ketepatan indikasi, ketepatan dosis obat dan ketepatan lama pemberian. Selain itu juga dilakukan analisa

terhadap adanya duplikasi terapi dan adanya interaksi obat.

## **HASIL DAN DISKUSI**

Tabel I memperlihatkan dari 2510 pasien, 98 (3,90%) diantaranya adalah pasien bronkopneumonia. Temuan ini sesuai dengan data nasional yang menyatakan bahwa bronkopneumonia ini termasuk kelompok penyakit 10 besar di Indonesia pada anak-anak (Kligman, 2000).

Selanjutnya pada dilakukan evaluasi ketepatan penggunaan antibiotika pada penderita bronkopneumonia yang mendapatkan rawat inap SMF Ilmu Kesehatan Anak. Ketepatan penggunaan yang dimaksud adalah dengan membandingkan temuan penggunaan antibiotika dengan kriteria penggunaan yang telah disusun sebelumnya. Analisa dilakukan secara kualitatif meliputi ketepatan indikasi, ketepatan dosis, ketepatan regimen, ketepatan lama pemberian, serta adanya kombinasi, duplikasi terapi dan interaksi dengan obat lain.

Tabel II menunjukkan bahwa pemberian antibiotika pada penderita bronkopneumonia sudah 100% tepat indikasi. Semua jenis antibiotika yang diberikan-yaitu kloramfenikol, amoksisilina, ampicilin, gentamisin, sefotaksim, sefiksim, eritromisin dan linkomisin-memang termasuk kelompok antibiotika yang diindikasikan untuk terapi bronkopneumonia, meskipun tidak semua jenis antibiotika tersebut direkomendasikan oleh PDT SMF Ilmu Kesehatan Anak FRS dan formolarium rumah sakit yang bersangkutan.

Pada analisa ketepatan penderita ini tidak ditemukan satupun obat yang tidak tepat penderit (100% tepat penderita). Tepatan penderita artinya obat yang diberikan tidak kontra indikasi dengan

penderita. Pemberian antibiotika harus mempertimbangkan kondisi patofisiologis dan penyakit lain yang diderita oleh pasien, sehingga akan dapat mempercepat kesembuhan dan mengurangi biaya pengobatan (Dolin, 1999). Pemberian antibiotika yang tepat penderita ini menunjukkan bahwa pada penderita bronkopneumonia sudah mendapatkan terapi sesuai dengan kondisi individual masing-masingnya, terutama karena mereka adalah anak-anak dengan segala keterbatasan fisiologisnya.

Tabel I. Distribusi penyakit pasien rawat inap berdasarkan diagnosa penyakit

No	Diagnosa	Jumlah	Persentase
1	Gastroenteritis	225	8.96
2	Prematurity	170	6.77
3	Convulsions	145	5.78
4	Respiratory distress syndrome of newborn	135	5.38
5	Hiperbilirubin	125	4.98
6	Bronkopneumonia	98	3.90
7	Hipothermia of newborn	57	2.55
8	IHD	36	2.27
9	Aspirasi pnemonia	34	1.43
10	Thyfoid	64	1.35
11	Lain-lain	1421	56.61
	Jumlah pasien SMF IKA	2510	100,00

Tabel II. Jumlah dan persentase ketidaktepatan (penderita, indikasi, dosis, regimen dan lama pemberian) penggunaan antibiotika pada penderita bronkopneumonia rawat inap SMF IKA Perjan RS. DR. M. Djamil Padang selama tahun 2002

No	Jenis Antibiotika	JPA	TTI		TTP		TTD		TTF		TTLP	
			Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%
1	Amoksisilin	42	0	0	0	0	0	0	0	0	13	30.95
2	Kloramfenikol	43	0	0	0	0	2	4.65	0	0	3	6.98
3	Ampisilin	37	0	0	0	0	0	0	0	0	7	18.92
4	Gentamisin	36	0	0	0	0	6	16.66	0	0	8	22.22
5	Sefotaksim	6	0	0	0	0	0	0	0	0	3	50.00

Keterangan:

JPA :Jumlah Pengguna Antibiotika

TTI :Tidak Tepat Indikasi

TTP :Tidak Tepat Penderita

TTD :Tidak Tepat Dosis

TTF :Tidak Tepat Fekkuensi Pemberian TTLP: Tidak Tepat Lama Pemberian

Pada analisa ketepatan dosis, ditemukan ketidaktepatan dosis pada penggunaan kloramfenikol sebesar 4,65% % dari 43 pasien yang menggunakannya dan pada penggunaan gentamisin sebesar 16,66% dari 34 orang penderita yang menggunakannya. Ketidaktepatan dosis pada penggunaan kloramfenikol disebabkan karena dosis yang diberikan lebih besar dari yang seharusnya (100 mg/kgBB/hari), sedangkan pada ketidaktepatan pada penggunaan gentamisin disebabkan karena dosis yang diberikan kurang dari yang seharusnya (2.5 mg/kgBB/hari). Pemberian kloramfenikol yang melebihi dosis dapat menimbulkan bahaya pada bayi dan anak-anak (terutama neonates), karena mekanisme konjugasi asam glukoronat-enzim yang berperan dalam proses degradasi dan detoksikasi kloramfenikol yang belum sempurna. Disamping itu juga dapat terjadi gangguan hematologis seperti penekanan sum-sum tulang belakang (Down, 1995; Katzung, 1998 dan Kaye, 1983).

Pada pasien yang diberikan gentamisin dengan dosis kurang tidak ditemukan adanya alasan yang mengharuskan dikurangnya pemberian antibiotika ini, misalnya bila individu mengalami gangguan fungsi ginjal karena mengingat bahaya akumulasi obat dan efek toksik (Down, 1995). Kurangnya dosis antibiotika yang diberikan akan dapat menyebabkan efek yang diinginkan tidak tercapai, sehingga mikroorganisme yang menginfeksi tidak mati, bahkan ini dapat menimbulkan resistensi (Chamber, 2001).

Pada evaluasi ketepatan regimen penggunaan antibiotika, didapatkan ketepatan regimen 100% sehingga dengan demikian yang tidak tepat sebesar 0%. Secara umum antibiotikaa seperti ampicilin diberikan setiap 6 jam dan amoksisilin, sefotaksim setiap 8 jam. Kloramfenikol diberikan setiap 6 jam atau dosis dibagi

dalam 4 kali pemberian. Sementara itu gentamisin dan sefiksikim diberikan setiap 12 jam atau 2 kali sehari. Eritromisin diberikan setiap 8 jam. Semua pengaturan atau regimen telah diberikan dengan tepat pada pasien bronkopneumonia SMF IKA. Ini menunjukkan kalau sudah ada keteraturan dalam pemberian antibiotikaa terhadap pasien.

Pada analisa ketepatan lama pemberian, ditemukan ketidaktepatan lama pemberian pada amoksisilin 30,95%, kloramfenikol 6,98%, ampicilin 18,92%, gentamisin 22,22% dan sefotaksim 50%. Secara umum ketidak tepatan lama-pemberian ini adalah karena lama pemberian antibiotika yang kurang dari yang telah ditetapkan oleh standar. Lama pemberian antibiotika yang pendek dapat menyebabkan munculnya kembali gejala klinis yang telah hilang, bahkan dapat juga menyebabkan timbulnya resistensi pasien karena tidak terjamin apakah mikroorganisme sudah musnah atau belum sehingga akan memperlama kesembuhan (Jawetz, 1984 dan Dzumba, 2003).

Tabel III memperlihatkan bahwa, umumnya pengobatan yang diberikan pada penderita bronkopneumonia adalah berupa kombinasi antara beberapa antibiotika. Menurut PDT SMF IKA Perjan rumah sakit tersebut, kombinasi antibiotika yang diberikan pada penderita bronkopneumonia adalah kombinasi antara ampicilin-kloramfenikol untuk anak-anak atau ampicilin-gentamisin untuk bayi kecil dari 3 bulan.

Kombinasi obat dapat bersifat sinergis atau antagonis. Kombinasi sinergis adalah dua obat yang diberikan bersama-sama dan menimbulkan efek yang lebih besar dari jumlah efek masing-masing obat bila diberikan secara terpisah pada pasien, sedangkan kombinasi yang bersifat antagonis terjadi apabila dua obat diberikan bersama-sama dan menimbulkan efek yang



berlawanan sehingga dapat mengurangi efek obat lain. Efek antagonis ini dapat diatasi dengan cara mengatur jadwal waktu pemberian kedua obat sehingga efek yang diperoleh lebih menguntungkan (Jawetz, 1984). Penggunaan antibiotika kombinasi ini sangat bermanfaat pada terapi infeksi empirik yang belum diketahui jenis mikroorganisme penyebab infeksi. Selain itu dapat juga untuk mengobati infeksi campuran dan memperlambat timbulnya resistensi (Jawetz, 1984; Chamber, 2001 dan Neu, 2003).

Pada penelitian ini dijumpai kombinasi sinergis yang meliputi kombinasi antara ampicilin-gentamisin, amoksisilin-gentamisin, kloramfenikol-eritromisin, ampicilin-kalfoxim, ampicilin-kloramfenikol, amoksisilin-kloramfenikol dan kloramfenikol-sefotaksim. Penggunaan ampicilin/amoksisilin-kloramfenikol merupakan kombinasi antibiotika pilihan untuk pengobatan bronkopneumonia. Namun jika diberikan sekaligus kedua antibiotika tersebut akan bersifat antagonis. Untuk mengatasi hal ini waktu penggunaannya harus dijarakkan, dimana pada kasus ini kloramfenikol digunakan setelah 1-2 jam pemberian amoksisilin atau ampicilin, sehingga efek yang diperoleh menjadi lebih baik, demikian pula halnya dengan kombinasi kloramfenikol-sefotaksim (Kaye, 1983).

Pada terapi penyakit infeksi dengan antibiotika tidak jarang terjadi duplikasi terapi. Duplikasi terapi dapat terjadi bila

dua obat yang diberikan mengandung zat aktif yang sama atau bila obat tersebut berasal dari golongan yang sama. Pada penelitian ini, sebagaimana diperlihatkan oleh Table IV, juga ditemukan penggunaan antibiotika secara duplikasi, yaitu ampicilin-sefotaksim dan ampicilin-kalfoxim<sup>®</sup> masing-masing sebesar 1,26%. Ampicilin dan sefotaksim (Kalfoxim<sup>®</sup>) merupakan antibiotika golongan  $\beta$ -Laktam. Adanya duplikasi terapi ini dapat meningkatkan resiko efek samping, reaksi obat yang merugikan, meningkatkan kemungkinan terjadinya toksisitas pada penderita, serta meningkatkan biaya pengobatan (Dolin, 1999).

Beragamnya komplikasi penyakit yang diderita pasien menyebabkan banyaknya obat yang diberikan (polifarmasi). Hal ini sering menyebabkan terjadi interaksi obat. Interaksi tersebut dapat berupa interaksi farmakokinetik atau interaksi farmakodinamik. Interaksi farmakokinetik adalah proses-proses yang dialami molekul obat kedalam tubuh sampai hilangnya obat tersebut, proses ini mencakup absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi obat lain sehingga kadar obat tersebut dapat meningkat atau berkurang dalam plasma. Sedangkan interaksi farmakodinamik terjadi bila pemberian bersama obat tersebut memodifikasi efek farmakodinamik salah satu atau keduanya, baik berupa aditif atau antagonis (Dennis, 1988).

Tabel III. Jumlah dan persentase penggunaan antibiotika kombinasi pada penderita bronkopneumonia

Kombinasi Obat	Jumlah	Persentase	Jenis Kombinasi
Amoksisilin – Kloramfenikol	29	36.71	Sinergis
Ampisilin – Gentamisin	22	27.85	Sinergis
Ampisilin – Kloramfenikol	12	15.19	Sinergis
Amoksisilin – Gentamisin	13	16.46	Sinergis
Kloramfenikol – Eritromisin	1	1.26	Sinergis
Kloramfenikol – Sefotaksim	1	1.26	Sinergis
Ampisilin – Kalfoxim	1	1.26	Sinergis
Total Pasien	79		

Tabel IV. Jumlah dan persentase adanya duplikasi penggunaan antibiotika pada penderita bronkopneumonia rawat inap SMF IKA Perjan RS. M. Djamil Padang selama tahun 2002

Jenis Duplikasi	Jumlah	Persentase
Ampisilin – Sefotaksim	1	1.26
Ampisilin – Kalfoxim	1	1.26
Total Pasien	79	2.52

Tabel V. Jumlah dan persentase kasus interaksi obat pada penderita bronkopneumonia rawat inap SMF IKA Perjan RS. DR. M. Djamil Padang selama tahun 2002

Interaksi Obat	$\Sigma$	%	Jenis Interaksi	Keterangan
Kloramfenikol –	4	5.06	Farmakokinetik	Memperpanjang waktu
Parasetamol	2	2.53	Farmakokinetik	paruh kloramfenikol
Kloramfenikol – Luminal	3	3.79	Farmakokinetik	Mempercepat metabolisme
Kloramfenikol –	3	3.79	Farmakokinetik	kloramfenikol
Ripamfislin	30	37.9	Farmakodinamik	Mempercepat metabolisme
Amoksisilin –	12	7	Farmakodinamik	kloramfenikol
Aminoglikosida	24	15.1	Farmokokinetik	Mengurangi efek
Amoksisilin –	9			aminoglikosida
Kloramfenikol	30.3			Mengurangi efek
Ampisilin –	7			amoksisilin
Kloramfenikol				Mengurangi efek ampisilin
Ampisilin –				Mengurangi efek
Aminoglikosida				aminoglikosida
Total Pasien	79			

Table V memperlihatkan bahwa pada penelitian ini ditemukan interaksi farmakokinetik sebesar 45.54%, yaitu interaksi antara kloramfenikol-parasetamol, kloramfenikol-luminal, kloramfenikol-rifampisin, amoksisilin-aminoglikosida dan ampicilin-aminoglikosida. Disamping itu juga terdapat interaksi farmakodinamik sebesar 53.16 %, yang terdiri dari interaksi amoksisilin-kloramfenikol dan ampicilin-kloramfenikol. Efek toksik kloramfenikol akan dapat meningkat bila diberikan bersama dengan parasetamol, karena parasetamol dapat mengakibatkan waktu paruh kloramfenikol bertambah panjang sehingga kloramfenikol lebih lama berada dalam tubuh sehingga kalau tidak diwaspadai dapat menyebabkan toksisitas. Mekanisme terjadinya interaksi ini diduga disebabkan oleh persaingan pada tempat metabolisme (DEPKES, 2000 dan Hansten, 2000).

Interaksi antara kloramfenikol dengan luminal akan dapat mempercepat metabolisme kloramfenikol dan menaikkan kadar plasma luminal, hal ini disebabkan karena luminal dapat berfungsi sebagai “*enzym inducer*” yang dapat menginduksi enzim hati (Down, 1995 dan Neu, 2003),

sedangkan interaksi antara kloramfenikol dengan rifampisin dapat mempercepat metabolisme kloramfenikol. Disamping itu interaksi antara ampicilin-aminoglikosida akan dapat menyebabkan berkurangnya efek aminoglikosida, seperti gentamisin, ini terjadi karena pemberian ampicilin yang bersamaan dengan gentamisin dapat menyebabkan terurainya gentamisin secara fisiko kimia (Stockley, 1995). Kombinasi kedua antibiotika ini telah tercantum dalam Pedoman Penggunaan Antibiotika Nasional (PPAB) dan Pedoman Diagnosa dan Terapi SMF IKA dengan syarat pemakaian harus dijarakkan. Dalam hal ini ampicilin yang diberikan terlebih dahulu, 1-2 jam kemudian baru digunakan gentamisin (Trissel, 1980). Interaksi antara ampicilin/amoksisilin dengan kloramfenikol akan dapat menurunkan efek ampicilin/amoksisilin, dimana ampicilin dan amoksisilin yang bersifat bakterisid hanya dapat bekerja pada bakteri yang berada dalam keadaan aktif sedangkan kloramfenikol yang bersifat bakteriostatik dapat menginaktifkan bakteri. Jadi untuk mengatasinya hal tersebut maka pada SMF IKA penggunaannya harus dijarakkan (Kaye, 1983)

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa masih terdapat berbagai ketidakrasionalan, duplikasi dan interaksi dalam penggunaan antibiotika pada

penderita bronkopneumonia di instalasi rawat inap Ilmu Kesehatan Anak suatu rumah sakit pemerintah di Kota Padang.

## DAFTAR PUSTAKA

- |   |   |
|---|---|
| <p>American Society of Hospital Pharmacy (ASHP), 1988, ASHP guidelines on the pharmacist's role in drug-use evaluation, <i>American Journal of Hospital Pharmacy</i>, <b>45</b>, February.</p> <p>Arustyono, 1999, <i>Promoting rational use of drug at the community health centre in Indonesia</i>, Departemen of International Health School of Public Health, Boston.</p> | <p>Chamber, H.F, 2001, “Antimicrobial Agen”, in <i>Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics</i>, 10<sup>th</sup> Ed., The Mc. Grow Hill Co. Inc, New York.</p> <p>Dennis, W., Raisch, J., 1988, “Association of length of stay and total Hospital charges with antimicrobial regimen change”, <i>American Journal of Hospital Pharmacy</i>, <b>45</b>, April.</p> |
|---|---|

- Departemen Kesehatan RI, 1992, *Pedoman Penggunaan antibiotika Nasional*, edisi.1, Direktorat Jenderal Pelayanan Medik, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Informatorium Obat Nasional Indonesia*, Sagung Seta, Jakarta.
- Dolin, R., 1999, "Terapi dan Profilaksis Infeksi Bakterial", dalam Isselbacher (editor), Harrison : *Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam*, Vol. 2, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Down, B. and Marks, 1995, *Biokimia Kedokteran Dasar*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Hicks, W. E., 1994, *Practice Standards of ASHP, 1994-1995*, The American Society of Hospital Pharmacist Inc, Bethesda.
- Jawetz, E., 1984, *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*, edisi 16, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Katzung, B.G., 1998, *Farmakologi dasar dan Klinik*, edisi 6, Alih Bahasa Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kaye, D. and Rose, F., 1983, *Fundamental of Internal Medicine*, The Mosby Company, London.
- Kliegman, B. and Nelson, A., 2000, *Ilmu Kesehatan Anak*, edisi 15, diterjemahkan oleh A. S Wahab, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Neu. C. *Antimicrobial Chemoterapy* <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch011.htm>. diakses pada 26 Juni 2003.
- Stockley, H.I., 1995, *Drug Interaction*, Ed.3, Blackwell Scientific Publishing, London.
- Trissel, L.A, 1980, *Handbook of Injectable Drugs*, 2<sup>nd</sup> Ed, American Society of Hospital Pharmacies Inc, Bethesda
- Watimena, J.R., N.C, Sugiarto dan M.B. Widiyanto, 1991, *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

## FORMULASI TABLET HISAP EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DENGAN GELATIN SEBAGAI PENGIKAT

Deni Noviza\*, Elfi Sahlan Ben, Rizky Oktavianus

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Padang

e-mail:deninoviza@yahoo.com\*

### ABSTRAK

Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) telah diteliti memiliki aktifitas sebagai anti oksidan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh kadar larutan gelatin terhadap mutu dan rasa dari tablet hisap temu lawak. Ekstrak temu lawak dibuat dengan metode remaserasi dengan menggunakan etanol 70%. Tablet hisap dibuat dengan metode granulasi basah dengan variasi kadar larutan gelatin FI (5%) , F2 (10%) dan F3 (15%). Tablet dievaluasi sifat fisiknya meliputi keseragaman bobot, kekerasan, kerapuhan, dan rasa. Hasil pemeriksaan tablet hisap ekstrak temulawak menunjukkan bahwa semua formula memenuhi persyaratan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar bahan pengikat gelatin menyebabkan peningkatan kekerasan tablet hisap dan penurunan kerapuhan. Hasil uji rasa menunjukkan bahwa tablet yang memiliki rasa yang paling diterima responden adalah tablet Formula 3 dengan gelatin 15%.

**Kata kunci:** *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, gelatin, tablet hisap

### PENDAHULUAN

Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. memiliki aktivitas antimikrobal dalam menghambat aktivitas beberapa bakteri seperti *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* (Husein, Parhusip & Romasi, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek sebagai antimikroba tersebut berasal dari xanthorrhizol yang terkandung dalam minyak atsiri dari rimpang. Hanya dengan dua mikrogram per milliliter, xanthorrhizol berhasil menghambat aktivitas *Streptococcus mutans* dalam semenit. Xanthorrhizol juga membasmi *Actinomyces viscosus* dan *Porphyromonas gingivalis* penyebab penyakit periodontitis (gigi berdarah dan lepasnya gigi) (Hwang, Shim, [In](#) & Pyun, 2000).

Senyawa xanthorrhizol merupakan komponen utama dari minyak atsiri yang termasuk golongan fenolik sesquiterpen yang berkhasiat sebagai anti jamur dan anti bakteri. Xanthorrhizol ini stabil pada temperatur tinggi dan aman digunakan pada

kulit manusia. Xanthorrhizol merupakan anti bakteri spectrum luas yang dapat melawan bakteri penyebab gigi berlubang ataupun bakteri penyebab jerawat sehingga mulai banyak digunakan dalam sediaan farmasi seperti losio, sabun, pasta gigi, atau krim (Anthony, 2004; Aguilar, Delgado & Villareal, 2001; Anonim, 2000). Oleh sebab itu, pengembangan teknologi sediaan berbahan baku temulawak perlu dilakukan. Salah satu contohnya pembuatan tablet hisap dari ekstrak temulawak.

Tablet hisap adalah bentuk sediaan obat tablet yang diberi penambah rasa untuk dihisap (dikulum) dan didiamkan (ditahan) di dalam mulut atau faring (Charles, 2010). Tablet hisap atau yang disebut dengan lozenges merupakan salah satu bentuk sediaan padat yang mengandung zat tambahan, yang diharapkan untuk lepas secara lambat pada mulut dan bertujuan untuk pengobatan lokal (Allen, 2002). Tablet hisap mempunyai kekerasan yang lebih tinggi daripada tablet biasa, yaitu 7 – 14 kg (Cooper dan Gunn, 1975). Untuk memperoleh kekerasan itu, maka diperlukan

bahan pengikat yang sesuai. Bahan pengikat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelatin. Dalam penelitian ditunjukkan bahwa peningkatan kandungan gelatin dalam tablet menyebabkan peningkatan kekerasan dan waktu hancur, dan memperlambat laju disolusi (Charles, 2010).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh konsentrasi dari bahan pengikat (gelatin) terhadap sifat fisika dan rasa dari tablet hisap temu lawak.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, alat pencetak tablet Single Punch (STC-93674, *Single Punch Tablet Press*), timbangan digital (*Denver Instrumen*<sup>®</sup>), timbangan gram (*Ohaus Triple Beam Balance US.PAT.No.2.729,439*), alat ukur kekerasan tablet (*Stokes-Monsanto*<sup>®</sup>), alat ukur waktu hancur (*Pharma Test PT2-E*), alat uji granul (*fluidity tester*<sup>®</sup>), alat ukur kerapuhan tablet (*Roche Friabilator*<sup>®</sup>), tap volumeter (*Bulk Density teste*<sup>®</sup>), jangka sorong, lemari pengering, timbangan analitik, dan stopwatch.

### Bahan

Rimpang temu lawak, xanthorrhizol essential oil, kloroform, heksan, etanol 70%,

plat KLT 60 F<sub>245</sub> (Merck), aerosil, gelatin, manitol.

### Ekstraksi Temulawak

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metoda maserasi (perendaman). Sebanyak 500 g rimpang kering dimaserasi dengan pelarut etanol 70 % selama 5 hari sambil sekali-sekali diaduk. Sarinya disaring dan ampasnya dimaserasi kembali dengan perlakuan yang sama sebanyak 3 kali pengulangan. Maserat dikumpulkan lalu diuapkan dengan destilasi vacum dan dikentalkan dengan rotary evaporate hingga diperoleh ekstrak kental dengan berat konstan.

**Tabel I. Formula tablet hisap ekstrak temulawak**

Nama Bahan	Formula		
	1	2	3
	Gelatin 5%	Gelatin 10%	Gelatin 15%
Ekstrak temulawak (mg)	120	120	120
Manitol (mg)	441	435	429
Aerosil (mg)	30	30	30
Gelatin (mg)	23	23	23
Aerosil (mg)	2,9	2,98	2,97
Total bobot tablet (mg)	600	600	600

### Formulasi Tablet Hisap

Masing-masing formula tablet hisap menggunakan ekstrak temu lawak sebanyak 120 mg dengan menggunakan manitol (429-441 mg) sebagai pengisi dan gelatin (5 – 15%) sebagai pengikat. Kekuatan cetak masing-masing formula dibuat sama. Berat

tablet dari masing-masing formula diatur menjadi 600 mg. Granulasi dilakukan dengan metode granulasi basah menggunakan aerosil sebagai adsorben dan lubrikan. Tablet hisap dicetak menggunakan mesin cetak tablet single punch.

## Evaluasi

Granul yang dihasilkan dievaluasi sifat fisiknya. Kandungan air dilakukan terhadap 5 g granul menggunakan alat *Infra Red Moisture Balance*. Sifat alir dari granul dilakukan terhadap 30 g granul dan ditentukan sudut lonsornya. Bobot jenis benar dan mampat dari granul menggunakan alat tap volumeter kemudian dihitung faktor hausnanya. Sedangkan tablet hisap yang dihasilkan dievaluasi sifat fisiknya antara lain kekerasan, kerapuhan, keseragaman

bobot (DepKes RI, 1995). Pengukuran kekerasan tablet dilakukan dengan menggunakan alat Stokes Monsanto terhadap 10 tablet. Uji kerapuhan menggunakan alat *Friabilator Roche*. Pengukuran keseragaman bobot dilakukan terhadap 20 tablet yang diambil secara acak, tablet ditimbang satu persatu kemudian dirata-ratakan. Waktu larut dan uji tanggapan rasa dilakukan terhadap responden.

## HASIL DAN DISKUSI

Rendemen dari ekstrak yang dihasilkan adalah 15,28%. Sifat alir dari ekstrak kering tidak terlalu bagus maka digunakan metode granulasi basah sehingga dapat memperbaiki sifat alir dan memperpanjang waktu larut dari zat.

Tabel 3 menunjukkan sifat fisika dari granul yang dihasilkan, dimana semua formula granul memenuhi syarat kandungan air (3-5%), dimana kandungan air ini berfungsi untuk mengaktifkan bahan pengikat. Sifat alir dari granul dievaluasi

dengan menghitung kecepatan alir dan sudut lonsor. F1 dan F2 memenuhi syarat kecepatan alir yaitu  $< 10$  g/detik sedangkan F3 tidak memenuhi syarat. Semakin besar konsentrasi gelatin yang digunakan maka semakin besar kecepatan alirnya tapi sudut lonsornya semakin kecil walaupun secara umum sudut lonsor yang dihasilkan menggambarkan kalau granul yang dihasilkan dapat mengalir dengan bebas ( $25 - 30^\circ$ ).

**Tabel 2. Evaluasi dari granul yang mengandung ekstrak temu lawak**

Formula	Kandungan air (%)	Kecepatan Alir (g/detik)	Sudut lonsor	Faktor Hausner
F1	3,36	$9,80 \pm 0,000$	$29,22^\circ \pm 0,9644$	1,21
F2	3,42	$9,92 \pm 0,744$	$29,18^\circ \pm 1,3027$	1,27
F3	3,72	$10,26 \pm 0,357$	$29,14^\circ \pm 0,0809$	1,29

Hasil evaluasi dari tablet hisap temu lawak menunjukkan bahwa semua formula memiliki bobot yang seragam, yang terlihat dari nilai keseragaman bobotnya  $< 5\%$ . Keseragaman bobot merupakan parameter penting untuk mengontrol kualitas dari tablet, dimana dapat memastikan bahwa bahan pembantu dan zat aktif tidak hanya ditimbang dengan akurat tapi juga tercampur secara homogen dalam masa granul. Seperti juga terlihat pada tabel 3, semakin besar

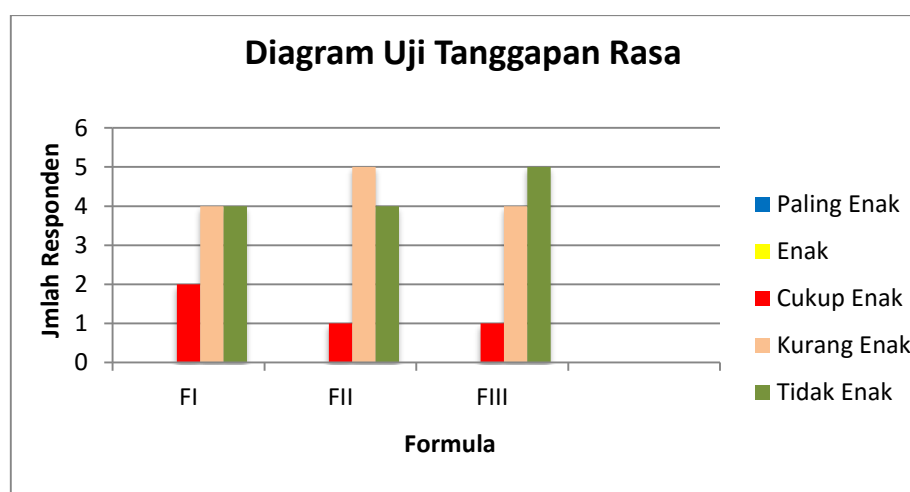
koncentrasi gelatin yang digunakan semakin meningkatkan kekerasan dari tablet hisap temu lawak, yang pada akhirnya mengakibatkan diperlamanya waktu melarut dari tablet hisap. Walaupun terjadi peningkatan dari kekerasan dari tablet hisap temu lawak tapi peningkatan yang terjadi tidak signifikan, hal ini mungkin disebabkan oleh gaya intragranular dan intergranular yang disebabkan oleh gelatin tidak terlalu besar.

**Tabel 3. Evaluasi dari tablet hisap yang mengandung ekstrak temu lawak**

Formula	Keseragaman Bobot (%)	Kekerasan (kg)	Kerapuhan (%)	Waktu Melarut (menit)
F1	0,992	9,6 ± 0,51	0,2831 ± 0,0008	5,710 ± 1,2395
F2	0,993	9,9 ± 0,316	0,1536 ± 0,0035	6,0750 ± 1,1829
F3	0,995	10,8 ± 1,3152	0,1121 ± 0,011	6,365 ± 0,5664

Tablet hisap harus memiliki kekerasan antara 10–14 kg dan akan melarut dengan lambat, seragam dan waktu melarut yang

diperlambat (5-10 menit). Sifat fisika dari tablet hisap akan mempengaruhi pelepasan dari zat aktif.



**Gambar 1. Diagram Uji Tanggapan Rasa**

Hasil uji tanggapan rasa dari tablet hisap temu lawak menunjukkan bahwa rata-rata responden menilai semua formula tablet hisap yang dihasilkan kurang enak atau tidak

enak. Hal ini disebabkan oleh karena rasa pahit dari temu lawak tidak tertutupi oleh manitol yang digunakan.

## KESIMPULAN

Dengan peningkatan konsentrasi gelatin yang digunakan sebagai pengikat meningkatkan kekerasan, menurunkan kerapuhan, dan memperbaiki keseragaman

bobot tablet tapi memperlama waktu melarut dari tablet. Semua formula dinilai tidak enak oleh rata-rata responden.

## DAFTAR PUSTAKA

Aguilar, M. I., Delgado, G. & Villareal, M. L. (2001). New bioactive derivatives of xanthorrhizol. *Revista de la sociedad quimica de mexico*, 45, 56-59

Allen, L.V. (2002). *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding*. Washington, D.C: American Pharmaceutical Association



- Ben, E.S. (2008). Teknologi Tablet. Padang: Andalas University Press
- Charles, J.P., Siregar & Saleh Wikarsa. (2010). Teknologi Farmasi Sediaan Tablet. Jakarta: EGC
- Cooper, J.W., Gunn, C. (1975). Dispensing for Pharmaceutical Students, Twelfth Ed, 10; 186 – 187. Pitman Medical Publishing Co. Ltd, London
- Departemen Kesehatan RI. (1995). Farmakope Indonesia, edisi IV. Jakarta
- Hwang, J.K., Shim, J.S., In, B.N., & Pyun, Y.R. (2000). Antibacterial activity of xanthorrhizol from *Curcuma xanthorrhiza* against oral pathogens. *Journal of Fitoterapia* 71, 321-323
- Parrot, E. L. (1971). Pharmaceutical Technology. The United States of America: Burgers Publishing Company

**PENGARUH PEMBERIAN VANADYL SULFAT DENGAN KROMIUM (III)  
KLORIDA DALAM BENTUK TUNGGAL DAN KOMBINASI TERHADAP KADAR  
GLUKOSA SERUM DARAH MENCIT PUTIH YANG DIINDUKSI  
DEKSAMETHASON**

**Dwisari Dillasamola, Surya Dharma, Helmi Arifin**

*Fakultas farmasi, Universitas Andalas Padang*

**Abstrak**

Penelitian ini untuk melihat pengaruh pemberian Vanadyl Sulfat dengan Kromium (III) Klorida baik dalam bentuk tunggal maupun dalam bentuk kombinasi terhadap kadar glukosa darah mencit putih yang diinduksi dengan deksamethason. Penelitian ini menggunakan lima kelompok hewan uji. Masing-masing kelompok diberikan makanan dan minuman standar dan suplemen makanan berupa Ca glukonat (13mg/20 g BB), ZnSO<sub>4</sub> (0,172 mg/20 g BB), MgCl<sub>2</sub> (6,96 mg/20 g BB) dan penginduksi deksamethason 11 mg/kg BB. Kelompok I merupakan kelompok kontrol positif yang hanya diberikan makanan dan minuman standar dan tidak mendapatkan perlakuan seperti kelompok yang lain. Kelompok II sebagai kelompok kontrol negative yang hanya diberikan makanan dan minuman standar serta penginduksi deksamethason 11 mg/kg BB, kelompok III yaitu kelompok yang diberikan vanadyl sulfat 7,8 mg/20 g BB, kelompok IV yaitu kelompok yang diberikan Kromium Klorida 5,2 µg/20 g BB, kelompok V yaitu kelompok yang diberikan kombinasi vanadyl sulfat 0,39 mg/20 g BB dan kromiumV klorida 2,6 µg/20 g BB. Pemberian sediaan uji dilakukan dalam rentang waktu 42 hari dan pengukuran kadar glukosa serum darah dilakukan pada hari ke 7, 21 dan 42 dengan metode enzimatik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi vanadyl sulfat dengan kromium III klorida dapat menurunkan kadar glukosa serum darah secara signifikan  $p < 0,05$ .

**PENDAHULUAN**

Vanadium termasuk senyawa yang digunakan secara klinis untuk pengobatan pasien *diabetes*. (Lucy Marzban dan Yohanes H. McNeil, 2002). Vanadium merupakan logam transisi dengan bentuk stabil setelah proses oksidasi terbagi menjadi dua yaitu bervalensi 2 dan 5 (lebih stabil) (Sakurai, Hiromu, *et.al*, 1999). Vanadium banyak ditemukan pada makanan, suplemen, dan minuman. Bentuk yang paling umum dari vanadium ini adalah vanadyl sulfat dengan 31 % vanadium, sodium metavanadate dengan 42 % vanadium, sodium orthovanadate dengan 28 % vanadium (Jellin, *et.al*, 2006). Vanadium berperan untuk meningkatkan sensitivitas reseptor insulin agar proses masuknya glukosa ke dalam sel menjadi lancar (Srivastava and Mehdi, 2008). Hasil penelitian terdahulu

bahwa kromium dapat menurunkan kadar glukosa darah, jadi penelitian ini dilakukan untuk melanjutkan penelitian tersebut apakah vanadium dapat juga berperan seperti kromium tersebut. Bagaimana jika kedua logam ini dikombinasikan apakah juga dapat memberikan efek yang sama seperti yang diberikan dalam bentuk tunggal?

Kromium merupakan salah satu elemen renik yang kadarnya dalam jaringan lazim dalam ukuran mikrogram. Kromium banyak digunakan sebagai suplemen dan digunakan dalam rentang dosis 50-200 µg (Atmosukarto K., *et.al*, 2004). Kromium besar peranannya dalam proses metabolisme karbohidrat dalam tubuh, yakni dalam meningkatkan asupan glukosa darah masuk ke dalam sel. Kromium banyak terdapat di alam dan pada

beberapa makanan diantaranya hati, ikan, padi-padian, susu, bir dan ragi (Sherry Yaft,1998). Jika unsur kromium kurang dalam tubuh proses metabolisme karbohidrat akan terganggu sehingga masuknya glukosa ke dalam sel juga akan terganggu akibatnya kadar dalam darah akan meningkat (Anderson,1998). Kromium pikolinat yang sering digunakan karena daya absorpsinya lebih baik jika dibandingkan dengan kromium (III) klorida, dan senyawa ini sukar didapat, harganya cukup mahal dan oleh karena itu penelitian ini digunakan senyawa kromium (III) klorida. Alasan lain yang paling tepat adalah Surya Dharma (2010), meneliti senyawa Kromium (III) klorida sudah diteliti dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit secara signifikan. Kromium (III) klorida merupakan unsur yang berperan dalam meningkatkan sensitivitas insulin

Deksamethason merupakan glukokortikoid yang banyak digunakan di masyarakat sebagai obat, juga dapat digunakan sebagai penginduksi diabetes. Hasil research membuktikan bahwa deksamethason ini dapat meningkatkan kadar glukosa darah sebesar 46 % selama 5 hari secara intraperitoneal pada mencit percobaan (Ogama, *Et al*, (1992). Penelitian ini mengacu pada jurnal-jurnal yaitu menggunakan deksamethason untuk meningkatkan kadar glukosa darah mencit percobaan.

Diabetes Mellitus merupakan suatu penyakit kronik, progresif dan prevalensinya

meningkat pesat dan menjadi penyebab kematian terbanyak baik di negara maju maupun di negara berkembang. Diabetes Mellitus merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai insufisiensi insulin. Insufisiensi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta langerhans kelenjar pankreas atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO:1994).

### **Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui efek penurunan kadar glukosa darah setelah pemberian kombinasi senyawa vanadium 0,39 mg/20 g BB dan kromium (III) klorida pada dosis 2,6  $\mu$ g /20 g BB /20 g BB ataupun dalam bentuk tunggal vanadium dengan dosis 0,78 mg/20g BB dan kromium (III) klorida dengan dosis 5.2  $\mu$ g /20 g BB.

### **Manfaat Penelitian**

Pemberian kombinasi senyawa Kromium (III) Klorida dan senyawa vanadium diharapkan dapat meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada sel perifer sehingga kadar glukosa darah selalu berada dalam kondisi normal dan dapat mengurangi dosis pemakaian obat antidiabetika oral sehingga efek samping obat dapat dikurangi.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### *Alat, bahan dan hewan percobaan*

Alat yang digunakan adalah “ timbangan analitik”, timbangan hewan, jarum oral, beker gelas, gelas ukur, alat “*Accucheck Test*”, Strip Test, tissue, lumping, stamper, sudip, labu ukur dan gunting.

Bahan yang digunakan adalah : Vanadium, kromium (III) klorida, air suling, Na CMC

dan glukosa Ca glukonat, ZnSO<sub>4</sub>, dan MgCl<sub>2</sub>.

### *Prosedur Penelitian*

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan Kromium (III) klorida yang telah ditimbang sesuai dengan kebutuhan ke dalam HCl 0,1 N lebih kurang 3 tetes, kemudian dicukupkan

volumenya dengan menggunakan aquadest sampai 100 ml.

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan Vanadyl Sulfat yang telah ditimbang sesuai dengan kebutuhan ke aquades kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan aquadest sampai 100 ml.

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan, berat lebih kurang 20 gram, sehat dan telah diaklimatisasikan selama 7 hari. Untuk mengoptimalkan kadar glukosa dalam tubuh hewan uji, diberikan dexamethason untuk menginduksi diabetes. Rancangan yang dipergunakan adalah rancangan factorial 5x3 dengan 5 ulangan. Pada pemberian sediaan uji hewan dibagi menjadi 5 kelompok hewan percobaan secara acak, dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor, yaitu kelompok hewan percobaan yang hanya diberikan makanan standar dan air minum (kelompok I), Kelompok II diberikan suplemen, diberikan Ca glukonat (13mg/20 g BB ), ZnSO<sub>4</sub> ( 0,172 mg/20 g BB ), MgCl<sub>2</sub> ( 6,96 mg/20 g BB ), kelompok III diberikan vanadium dosis tunggal 0,78 mg/20g BB, kelompok IV diberikan kromium (III) klorida dosis tunggal 5,2µg/20g BB, kelompok V diberikan kombinasi vanadium dan kromium (III) klorida yang diturunkan dosisnya setengahnya yaitu dosis vanadium 0,39mg/20g BB dengan kromium (III) klorida 2,6 µg/20g BB. Masing-masing

kelompok selain diberikan makanan dan minuman standar juga diberikan suplemen makanan berupa Ca glukonat (13mg/20 g BB), ZnSO<sub>4</sub> (0,172 mg/20 g BB ), MgCl<sub>2</sub> (6,96 mg/20 g BB) dan diinduksi dengan dexamethason 11 mg/20 g BB kecuali kelompok I yang hanya diberikan makanan dan minuman standar.

Pemberian sediaan uji dilakukan dalam rentang waktu 42 hari dan pengamatan dilakukan pada hari ke 7, 21 dan 42. Peubah yang diukur adalah kadar glukosa darah mencit setelah pemberian kombinasi vanadium (dengan dosis 0,39 mg/20g BB ), dan kromium (III) klorida (dengan dosis 2,6 µg/20g BB ) pada pengamatan hari ke 7,21, dan 42.

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke 7, 21 dan 42 setiap kelompok dipuasakan 18 jam sebelum pengukuran. Diberikan larutan glukosa 195 mg/20 g BB secara oral dan setelah 1 jam diukur kadar glukosa darahnya. Digosokkan kapas yang diberikan alcohol pada ujung ekor mencit kemudian dipotong kira-kira 1 cm dari ujung ekornya. Ekor mencit ditarik dari atas secara perlahan untuk mengeluarkan darahnya lalu ditetaskan pada strip tes yang telag dipasang pada alat *Advantage Glucose Meter* hingga menutupi seluruh permukaan strip tes. Kadar glukosa darah akan terbaca dalam waktu lebih kurang 15 detik dalam satuan mg/dl.

## HASIL DAN DISKUSI

Setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian kombinasi kromium (III) klorida dengan vanadyl sulfat terhadap kadar glukosa darah mencit putih jantan yang dilakukan pada hari ke 7, 21 dan 42 maka didapatkan hasil yang dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut kelompok I sebagai kontrol negatif kadar glukosa darah rata-rata adalah 95,00 93,60 ; 91,40, kelompok II sebagai kontrol positif (dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 140,20 ; 222,80 ; 207,20, kelompok III (vanadyl sulfat 0,78 mg/20 g BB + dexamethason 11 mg/kg BB +

suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 116,60 ; 120,20 ; 118,20, kelompok IV (kromium (III) klorida dosis 5,2 µg/20 g BB + dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 117,40 ; 116,60 ; 111,20, kelompok V (kromium (III) klorida dosis 2,6 µg/20 g BB + vanadyl sulfat 0,36 mg/20 g BB + dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 112,220 ; 104,00 ; 98,40.

Persentase penurunan kadar glukosa darah pada hari ke-7, 21 dan 42 didapat hasil sebagai berikut kelompok III (vanadyl sulfat dosis 0,78 mg/20 g BB +

dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 52,21 %; 79,41 % ; 76,85 %, kelompok IV (kromium (III) klorida dosis 5,2 µg/20 g BB + dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 50,44 % 82,00 %; 82,90 %, kelompok V (kromium (III) klorida dosis 2,6 µg/20 g BB + vanadyl sulfat 0,36 mg/20 g BB + dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen) kadar glukosa darah rata-rata 61,94 %; 91,95 % ; 93,05 %,

Pada Tabel 1 diperlihatkan hasil pengamatan kadar glukosa darah mencit putih yang diberikan vanadyl sulfat dan kromium III klorida baik dalam bentuk tunggal yaitu dengan dosis pemberian 0,78 mg/20 g BB dan 5,2 µg/20 g BB ataupun dalam bentuk kombinasinya dengan dosis 0,39 mg/20 g BB dan 2,6 µg/20 g BB. Gambar 1 memperlihatkan diagram batang tentang pengaruh pemberian vanadyl sulfat dan kromium III klorida baik tunggal maupun kombinasi terhadap kadar glukosa darah mencit putih dan waktu pengamatan setelah perlakuan pada hewan uji.

Tabel 1. Kadar glukosa dalam darah setelah pemberian kombinasi vanadyl sulfat dengan kromium (III) klorida pada pengamatan hari ke 7, 21 dan 42 setelah diinduksi dengan glukosa

Perlakuan Kelompok/dosis	Pengamatan kadar glukosa darah mencit (mg/dl) pada hari ke-		
	7	21	42
Kelompok kontrol negatif	95,00 ± 2,23	93,60 ± 1,14	91,40 ± 1,14
Kelompok kontrol positif	140,20 ± 8,07	222,80 ± 16,13	207,20 ± 19,39
Vanadyl sulfat dosis 0,78 mg/20g BB + dex + suplemen	116,60 ± 4,56	120,20 ± 0,837	118,20 ± 4,76
CrCl <sub>3</sub> dosis 5,2 µg/20g BB + dex + suplemen	117,40 ± 3,64	116,6 ± 3,91	111,20 ± 12,13
CrCl <sub>3</sub> dosis 2,6 µg/20gg BB + vanadyl sulfat 0,38 mg/20 g BB + dex + suplemen	112,20 ± 7,56	104,00 ± 3,56	98,40 ± 5,17

Pada penelitian ini, zat uji yang digunakan adalah vanadium dan kromium (III) klorida yang diberikan secara tunggal dan kombinasi. Kedua logam berat ini berperan dalam terapi untuk penderita diabetes dengan meningkatkan sensitifitas reseptor insulin. Vanadium yang digunakan adalah bentuk vanadil sulfat mengandung 31 % vanadium (Jellin JM., et.al, 2006). Pemilihan dosis vanadium ini karena menurut literatur pemakaian sampai dosis 300 mg/hari secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah dan masih pada dosis aman

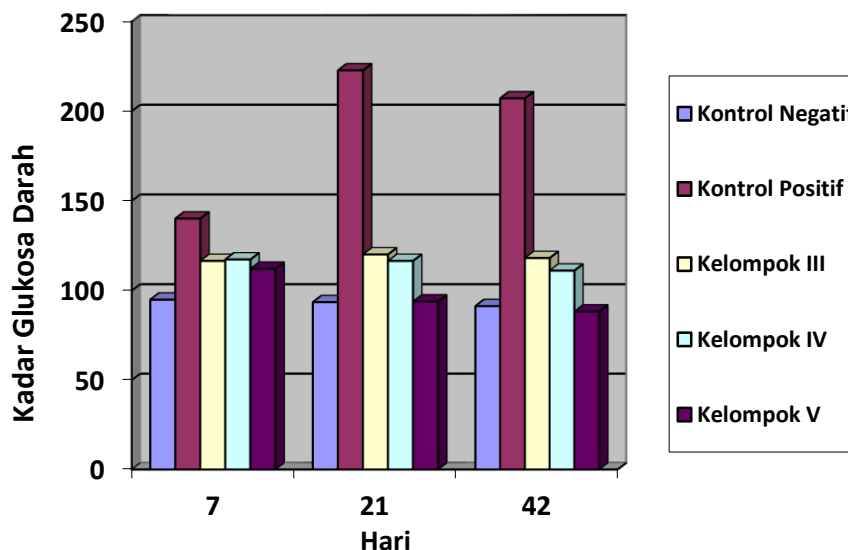
Kromium (III) klorida yang berfungsi sebagai suplemen dan dapat meningkatkan kerja insulin. Kromium yang digunakan

adalah kromium valensi 3 yang banyak digunakan sebagai obat diabetes dan merupakan suatu mikronutrisi yang berfungsi dalam metabolisme karbohidrat, lipid dan asam nukleat. Kromium ini biasanya digunakan pada rentang dosis 50-200 µg/kg BB (Linder,1961), sedangkan pada penelitian ini dosis yang digunakan adalah 2000 µg/kg BB, untuk manusia dan bila dikonversikan pada mencit adalah 5,2 µg/kg BB. Pemberian zat uji dilakukan pada rentang waktu 42 hari.

Deksamethason digunakan sebagai penginduksi mencit untuk meningkatkan kadar glukosa darahnya, berdasarkan hasil

research yang terdapat pada jurnal-jurnal penelitian bahwa deksamethason dapat meningkatkan kadar glukosa darah sebesar 46 % dengan dosis 11 mg/kg BB selama 5 hari secara intraperitoneal pada mencit percobaan (Ogama, *et al* (1992). Penelitian ini juga telah dilakukan uji pendahuluan

dengan menggunakan deksamethason 11 mg/kg BB selama 7 hari sebelum pemberian zat uji pada mencit percobaan secara intraperitoneal terlihat peningkatan kadar glukosa darah sebesar 30 – 40 % selama 7 hari pemberian jika dibandingkan dengan kadar normal glukosa darah mencit.



**Gambar 1.** Diagram batang hubungan antara kadar glukosa darah dengan lamanya waktu pengamatan setelah pemberian vanadyl sulfat 0,78 mg/20 g BB dan kromium (III) klorida dosis 5,2 µg/20 g BB.

Suplemen yang diberikan terdiri dari kalsium glukonat, zink sulfat, dan magnesium klorida. Tujuan pemberian suplemen ini adalah untuk membuat kondisi optimal pada pankreas sekaligus mencegah terjadinya kekurangan unsur-unsur dalam suplemen karena suplemen ini terdiri dari komponen-komponen yang terlibat dalam produksi insulin. Kalsium berfungsi untuk merangsang sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas (Katzung, 1997). Zink berperan untuk pembentukan, penyimpanan, dan sekresi insulin (Chausmer, 1998). Magnesium berperan sebagai kofaktor dalam mekanisme pelintasan glukosa melalui membran sel (Hans, *et al.*, 2002).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Pengukuran kadar glukosa darah mencit 1 jam setelah diberi larutan glukosa 195 mg/20 g BB.

Pengukuran ini dilakukan untuk melihat kemampuan dari sediaan dalam menurunkan kadar glukosa darah 1 jam setelah diinduksi. Waktu 1 jam dipilih karena glukosa dapat dengan cepat diserap di usus dan berada dalam peredaran darah dalam kadar yang optimal (Mutschler, 1991).

Kadar glukosa darah ditentukan dengan menggunakan alat Advantage Glucose Meter yang bekerja berdasarkan reaksi enzimatik. Dengan adanya oksigen, glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase yang terdapat dalam strip tes membentuk asam glukoronat dan hidrogen peroksida. Selanjutnya hidrogen peroksida yang terbentuk akan mengoksidasi ortholuidin yang dikatalis oleh enzim peroksidase menghasilkan warna biru. Intensitas warna biru dari ortholuidin yang teroksidasi dapat diukur oleh alat yang setara dengan kadar glukosa darah (Kaplan & Szabo, 1979). Metoda ini dipilih karena sederhana, darah yang dibutuhkan sedikit,

lebih spesifik, pengerjaan lebih cepat dan memberikan hasil yang cukup akurat dengan range 10 – 600 mg/dl (Mutschler, 1991).

Mencit diberikan larutan glukosa untuk melihat pengaruh asupan kromium dan vanadium sebelum diukur kadar glukosa darahnya. Jika mencit dalam keadaan puasa dan jumlah glukosa minimal, maka glukosa yang masuk kedalam sel tidak cukup untuk menyebabkan terjadinya depolarisasi sel dan perangsangan translokasi granula insulin oleh kalsium.

Untuk memperoleh serum, maka mencit dimatikan dengan cara dislokasi leher dan setelah didapatkan darah, lalu disentrifuse pada panjang gelombang 3000 rpm selama 20 menit, maka akan diperoleh serum yang berwarna bening pada bagian atas. Dalam pengambilan darah hewan percobaan maupun dalam perlakuan sampel darah yang diperoleh harus dilakukan secara hati-hati, karena didalam sel darah merah juga terdapat enzim transaminase, sehingga jika sel darah merah mengalami lisis maka enzim tersebut dapat keluar dari sel darah dan terlarut di dalam plasma sehingga menyebabkan peningkatan kadar enzim transaminase. Hal ini akan mengakibatkan kekeliruan dalam hasil uji (Bowman W.C., et.al, 1980).

Pengamatan dilakukan dengan membandingkan masing-masing kelompok dengan kelompok kontrol positif karena diinduksi dengan dexamethason 11 mg/kg BB dan suplemen, sebagai pembandingan antara mencit normal dengan mencit yang kadar glukosa darah tinggi. Sedangkan kelompok kontrol negatif adalah kelompok yang tidak diberikan apa-apa dan dijadikan sebagai acuan normal dari kadar glukosa. Hasil yang diperoleh setelah pemberian kromium (III) klorida terhadap kadar glukosa darah, dapat dijelaskan bahwa peningkatan dan penurunan kadar glukosa darah dianalisa berdasarkan perhitungan statistik dengan Anova 2 arah dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan program SPSS 17.

Pemberian dexamethason dengan dosis 11 mg/kg BB dimaksudkan untuk meningkatkan kadar glukosa darah sehingga dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian dexamethason 11 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar glukosa darah pada mencit percobaan sebesar 46 %. Berdasarkan dari acuan jurnal inilah penelitian ini menggunakan dexamethason 11 mg/kg BB untuk meningkatkan kadar glukosa darah mencit.

Pemberian suplemen ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$  dan  $\text{Mg}^{+2}$ ) dimaksudkan antara lain untuk menjaga kondisi optimal dalam pankreas. Tercukupinya kadar kalsium dalam pankreas kontraksi otot dapat dipertahankan sehingga sekresi insulin dari pankreas ke dalam darah dapat berlangsung secara normal (Katzung, 1997). Pemberian senyawa zink bertujuan sebagai kofaktor bagi banyak enzim yang diperlukan dalam metabolisme karbohidrat protein dan lemak dan juga berperan dalam pembentukan, penyimpanan dan sekresi insulin pada sel  $\beta$  pankreas. Peran lain dari zink ini adalah kemampuannya dalam produksi insulin yaitu dengan jalan menyusun dan memperoleh heksamer insulin, pengendapan dan kristalisasi insulin agar proses proteolisis tidak terjadi selama penyimpanan dalam sel (Chausmer, 1998).

Pada pengamatan hari ke- 7 pemberian vanadyl sulfat dengan dosis 0,78 mg/20 g BB terjadi penurunan kadar glukosa darah sebanyak 52,21 %. Dan pemberian kromium (III) klorida pada dosis 5,2  $\mu\text{g}$ /20 BB (50,44 %). Hal ini menunjukkan bahwa 2 jenis logam ini mempunyai daya efektivitas yang berbeda dalam penurunan kadar glukosa darah. Namun berbeda halnya dengan pemberian kombinasi kromium (III) klorida dosis 2,6  $\mu\text{g}$ /20 g BB dengan vanadyl sulfat dosis 0,39 mg/20 g. Pemberian kombinasi 2 logam ini dengan dosis yang diturunkan masing-masingnya setengah dari pemberian dosis dalam bentuk tunggal vanadyl sulfat ataupun kromium (III) klorida ternyata memberikan efek yang lebih besar dalam menurunkan kadar glukosa darahnya yaitu 61,94 % (lampiran 3, tabel 2).

Pengamatan pada hari ke 21, kelompok dosis vanadyl sulfat dosis 0,78 mg/20 g BB, kromium (III) klorida dosis 5,2 µg/20g BB dan kombinasi kedua logam ini dengan pemberian dosis setengah dari bentuk tunggalnya, menunjukkan peningkatan persentase yang signifikan dibandingkan dari pengamatan hari ke 7, dimana pada kelompok vanadyl sulfat dosis 0,78 mg/20g BB yaitu 79,41 % penurunan kadar glukosa darahnya, kromium (III) klorida dosis 5,2 µg/20 g BB 82,00 % dan pemberian dengan kombinasi 2 logam memperlihatkan penurunan kadar glukosa darah yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian vanadyl sulfat dan kromium (III) klorida yaitu 91,95 %, hal ini diduga karena dengan mengkombinasikan 2 logam ini dimana kromium (III) klorida dan vanadyl sulfat sama-sama bekerja. Hal ini mungkin disebabkan karena kromium berikatan kuat dengan reseptor transferin sehingga kadar kromium bertambah dalam darah, meningkatnya kadar kromium dalam sel target akan meningkatkan asupan glukosa masuk kedalam sel (lampiran 3, tabel 2).

Pengamatan pada hari ke 42, penurunan kadar glukosa darah pada pemberian kromium (III) klorida dosis 5,2 µg/20g BB dan kromium (III) klorida dosis 2,6 µg/20g BB + vanadyl sulfat dosis 0,38 mg/20g BB terjadi persentase penurunan kadar glukosa 82,90 % dan 93,95 %, sedangkan pemberian vanadyl sulfat dosis 0,78 mg/20g BB lebih

kecil persentase penurunana kadar glukosa darahnya dibandingkan dengan hari ke 21, ini diduga vanadium tidak mampu mengambil alih persaingan pada reseptor transferin secara rutin selama 42 hari (lampiran 3, tabel 2).

Untuk uji Anova 2 arah antara perlakuan, hari dan interaksi antara perlakuan dan hari memperlihatkan pengaruh yang signifikan ( $p < 0,05$ ). Perbedaan ini dilanjutkan dengan uji Duncan terlihat bahwa pada pemberian dosis  $\text{CrCl}_3$  dosis 2,6 µg/20 g BB + vanadyl sulfat 0,38 mg/20 g BB + dexamethason 11mg/kg BB + suplemen berada pada subset yang ke-1 dimana kelompok dosis yang paling tinggi menurunkan kadar glukosa darah yaitu mendekati kadar glukosa darah kontrol negatif, sedangkan pemberian dosis pada  $\text{CrCl}_3$  5,2 µg/20 g BB + dexamethason 11 mg/ kg BB + suplemen dan vanadyl sulfat 0,78 mg/20 g BB + dexamethason 11 mg/kg BB + suplemen berada pada subset yang ke-2, ini berarti kedua perlakuan dosis hampir sama memberikan efek untuk menurunkan kadar glukosa darah mencit, dan untuk kontrol positif berada pada subset ke 3 yaitu kadar glukosa darah yang tinggi. Sedangkan untuk perlakuan hari ke- 7 kadar glukosa yang paling rendah yaitu pada subset yang ke-1, diikuti hari ke- 42 pada subset ke-2 dan hari ke- 21 berada pada subset yang ke 3, sehingga dapat disimpulkan pemberian semua dosis untuk menurunkan kadar glukosa darah yang paling efektif adalah pada hari ke-7 (lampiran 5).

## **KESIMPULAN**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah pemberian vanadyl sulfat dosis 0,78 mg,  $\text{CrCl}_3$  dosis 5,2 µg dan  $\text{CrCl}_3$  dosis 2,6 µg/20gg BB + vanadyl sulfat 0,38 mg /20g BB setelah ditambahkan dexamethason 11 mg/kg BB dan suplemen dapat menurunkan kadar glukosa darah yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Dari hasil penelitian ini perlu dikembangkan lagi penelitian terhadap senyawa selain kromium dan vanadium, karena proses metabolisme karbohidrat dalam sel bukan saja ditentukan oleh kromium dan vanadium saja tetapi banyak unsur-unsur lain yang terlibat.



## DAFTAR PUSTAKA

- A.K. Srivastava and M.Z. Mehdi. 2004. *Diabetic Medicine*, 22, 2-13. Diabetes UK
- American Diabetes Association (ADA). (1997). Report of the expert committee on diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 30, S.4-7.
- American Diabetes Association (ADA). (2004). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Clinical Practice Recommendation*, 27, S.5-10.
- Anderson, R.A. (1998). Chromium, glucose tolerance and diabetes. *J. Am Coll Nutr.*, 17, 548-555.
- Anderson. R.A. (1989). Essentiality of chromium in humans. *Sci. Total Envir.*, 86, 75-81.
- Atmosukarto K., Johan E, Sherry Y, 2004. *Yaft*, 42, 187.
- Brichard, S.M., OK ITOLONDA, W. & Henquin, J.C. (1988). *Long Term Improvement of Glucose Homeostasis by Vanadate Treatment in Diabetic Rats*, *Endocrinology*, 123, 2048 – 2053.
- Causmer, A.B. (1998). Zinc, Insulin and Diabetes. *Journal of American College of Nutrition*, 17, 2, 109-115.
- Cefalu, W. T. & Hu, F.B. (2004). *Role of chromium in human health and in diabetes* *Diabetes Care*, 27, 2741-2571.
- Cefalu, W.T. (1999). Insulin resistance: cellular and clinical concepts. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 226, 13-26.
- Donaldson, R.M. & Jr., Barreras, R.F. (1996). Intestinal Absorption of Trace quantities of Chromium. *J. Lab. Clin. Med.*, 68, 484-493.
- El-Hommusany, Y. M. 2008. "Study of the Physiological Changes in Blood Chemistry, Humoral Immune Response and Performance of Quail Chicks Fed Supplemental Chromium", *International Journal of Poultry Science* : 40-44.
- Farmakologi dan Terapi, edisi 4, bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1995
- Free Diabetic Report, (8 November 2008). Benefits of Chromium for Insulin Resistance, Diakses 15 Februari 2009 dari <http://diabeticnutrition.com>.
- Gandasoebrata, R. (1967). *Penuntun Laboratorium klinik*. Jakarta : Dian Rakyat.
- Goodman, L.S. and A. Gilman (2006). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11<sup>th</sup> Ed, Macmillan Publishing Co. Inc. New York.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (2007). Insulin, Glukagon dan Diabetes Melitus. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (pp. 1011-1027). (Edisi 11). Alih Bahasa : dr. Irawati. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- International Diabetes Federation. 2005. *Diabetes e-atlas ( online )*. Diakses dari <http://www.eatlas.idf.org>
- Joshlin, Chandra Shekhar, Ekambaran Sanmuga Priya, and Subramanian Venkataraman. 2003. Acute and subacute Toxicity Studies on the Polyherbal Antidiabetic Formulation Diakur in Experimental Animal Models. *Journal of Health Science*, 53 (2) 245-249.
- Jellin JM, Gregory P, Batz F, et al. 2006. *Pharmacists Letter/Prescriber's Letter Natural Medicines Comprehensive Database*. 8th ed. Stockton, CA: Therapeutic Research Faculty; 1258-1260.

- Kahn, S.E. & Porte, D. (1990). Pathophysiology of the type II (non insulin dependent), diabetes mellitus : implication for treatment. In Elienberg, Rifkins (Eds.). *Diabetes mellitus theory and practice*. NY, USA : Elsevier.
- Lyoonnet B, Martz M, Martin E.L, employ Theraupetiquades derives du Vanadium, La Presse Med, 1899, 32,191 – 192
- Lucy marzban & Yohannes H.Mc.Neil, (2002). *Vanadium for diabetes*.USA: Elsevier
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (2009). Glukoneogenesis dan Kontrol Glukosa Darah. *Biokimia Harper* (pp. 175-183). (Edisi 27). Penerjemah Hartono Andry. Jakarta : EGC
- Nielsen, (2000). *Vanadium dari Peleburan Perak*, I.J.United States of America.
- National Institute of Health. (8 Mei 2005). *Dietary Supplement Fact Sheet : Chromium*, diakses 10 Januari 2009 dari <http://www.ods.od.nih.gov>.
- Ogama a, johnson JH, Ohneda M, Ms alloter CT, Inman L, alam T, Unger RH; *Roles of Insulin Resistance and Beta Cel Dysfunction in Dexamethason Induced Diabetes*, j Cln Invest (1992), 90 (2): 497-504.
- Ray Sahelian, (2002), *Vanadium Sebagai Suplemen*, Jakarta.
- Sakurai, Hiromu. Fujisawa, Yae. Fujimoto, Seiki. Yasui, Hiroyuki and Takino, Toshikazu. 1999. *Role of Vanadium in Treating Diabetes*. Department of Analytical and Bioinorganic Chemistry, Kyoto Pharmaceutical University, Kyoto, Japan The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine 12:393–401.
- Schumann, G., R. Bonora, F. Cerriotti, G. Gerrard. 2002. IFCC Primary Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Activities Concentrations of Enzymes at 37<sup>0</sup> C. *Clin Chem Lab Med*. 40 ; 725 – 33.
- Sinclair, A.J., Lunec, J., Cirling, A.J., & Barnet, A.H (1992). Modulator of free radical activity in diabetes mellitus: role of ascorbic acid. In I. Emerit, B. Change (Eds). *Free radicals and aging* (pp. 342-352). Basle : Birkhauser Verlag.
- Soetmadji. (2007). Insulin resistance : the background of metabolic syndrome, forum diabetes nasional-4 & forum endokrin dan diabetes regional sumatera-2. *Future Challenges : degenerative disease prevent early, treat optimally*. Padang : PB Parkeni Cabang Padang. Pp. 78.
- Stern A, Yin X, Tsang S-S, Davison A, Moon J. 1993. *Vanadium as a modulator of cellular regulatory cascades and oncogene expressions*. *Biochem Cell Biol* 71:103.
- Suardana, I.N.(2008). Optimasi daya adsorpsi zeolit terhadap ion kromium (III).Jurnal Penelitin dan Pengembangan Sains & Humaniora, 2(1),17-33.**
- Supartondo, dan S. Waspadji, Ilmu Penvakit Datum, Jilid I, Edisi 2, Balal Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1987
- Dharma, Surya. 2010. *Pengaruh Pemberian Kromium (III) Klorida dengan vitamin C Terhadap Kadar Glukosa Darah, Spermatozoa, dan Organ Terkait Mencit Putih*. (Disertasi). Padang: Universitas Andalas.
- Syahbudin. (2007). Resistensi Insulin: forum diabetes nasional-4 & forum endokrin dan diabetes regional sumatera-2. *Future Challenge: degenerative disease prevent early, treat optimally*. Padang : PB Parkeni Cabang Padang. pp. 1-2.
- Tadjudin, M.K. (1998). *Penuntun Laboratorium WHO Untuk Pemeriksaan Semen Manusia dan Interaksi Semen dengan*

*Getah Serviks*, Balai Penerbit Fakultas  
Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Uthmann, E.O.. "Renal Function", in Bishop,  
M., J.Duhsen, E. Fody, (ilnicul (heiriisiry  
Principle Procedures Corelation, J.Bippincot  
Company, Philadelphia, 1985.

**VitaNet. 2005. Vanadium - Kromium  
Mendukung Tingkat Gula Darah Sehat .  
Indian Jurnal Biokimia dan Biofisika ,  
30:73-76.**

World Health Organization. (1994).  
*Prevention of Diabetes Mellitus* (technical  
Report Series No. 844). Geneva: WHO.  
Yaft, Sherry,. 2003.Chromium, reviewed  
May, 15

## OPTIMASI NANOEMULSI MINYAK KELAPA SAWIT (PALM OIL) MENGUNAKAN SUKROSA MONOESTER

Elfi Sahlan Ben<sup>1</sup>, Muslim Suardi<sup>1</sup>, T. Chazraj Chalid<sup>1</sup>, dan Tomi Yulianto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, University Teknologi Mara, Malaysia

### ABSTRACT

Optimization nanoemulsion palm oil has been performed using a mixture of sucrose monoester/SME (sucrose monoesterstearat (S-1670 Ryoto®), sucrose monoesterlaurat (L-1695® Ryoto), sucrose monoesterpalmitat (P-1670 Ryoto®)) surfactants. The ratios of surfactant : VCO used were 1:4, 1:5, 1:6 variation of the concentration of surfactant mixtures ratio has been studied. The SME stearic: SME lauric and SME palmitic : SME lauric ratios used were 0:100, 10:90, 20 : 80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 and 100:0. The nanoemulsions are prepared using phase inversion temperature method and monitored physical parameters such as droplet size, zeta potential, Poly Dispersity Index (PDI) or the uniformity of droplet distribution and the velocity separation nanoemulsion without and with the addition of Carbopol. Based on this method and the ratio of oil-surfactant, the droplet sizes in the range 100 - 600 nm was obtained. The application of a single SME lauric (SME stearate: SME lauric and SME palmitic : SME lauric at 0:100 ratio) in each oil-surfactant ratio capable of producing droplets in the nanometer size. Additions with 10% SME stearate or palmitate (SME stearic : SME lauric and SME palmitic : SME lauric 10:90) increase of droplet size (increase < 100nm). The droplet size decreased along with the increase of SME stearate and SME palmitate concentration in the surfactant (SME stearic -SME lauric and SME palmitic-SME lauric) up to certain concentration indicating the optimum condition and surfactant combination in the development of nanoemulsion. The zeta potential value showed nanoemulsion moderate stable (-32 - -48). PDI showed range between 0,074-0,340, where is the PDI smaller than 0.1 indicates high uniformity of droplets size. The stability of nanoemulsions were determined using a stability analyzer without and with a thickening agent (Carbopol 934 and Carbopol 940) with various concentration of 0.25, 0.5, 0.75 and 1%. The additions of Carbopol could improve stability of nanoemulsion by retardation of nanoemulsion separation.

**Keywords :** Nanoemulsi, Sukrosa Monoester - stearat, - laurat, - palmitat, surfaktan.

### PENDAHULUAN

Emulsi merupakan sediaan yang mengandung dua fase yang tidak tercampur, biasanya air dan minyak, dimana cairan yang satu terdispersi menjadi tetesan-tetesan kecil (droplet) dalam cairan lainnya yang distabilkan dengan zat pengemulsi atau surfaktan yang cocok (Anief, 2000). Sistem emulsi umumnya mudah rusak dengan penambahan energi serta seiring berjalannya waktu. Masalah ini dapat diatasi dengan memperkecil ukuran droplet serta

penggunaan *stabilizer*. Memperkecil ukuran droplet dapat dilakukan dengan pembuatan nanoemulsi (Haryono, 2009).

Nanoemulsi adalah sistem emulsi yang *transparent*, tembus cahaya dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan oleh lapisan film dari surfaktan atau molekul surfaktan, yang memiliki ukuran droplet 50 nm – 500 nm (Shakeel, et al., 2008). Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil membuat nanoemulsi stabil secara kinetik sehingga

mencegah terjadinya sedimentasi dan kriming selama penyimpanan (Solans, et al., 2005). Nanoemulsi telah diterapkan dalam berbagai industri farmasi, diantaranya untuk sistem penghantar transdermal, bahan atau unsur yang potensial dalam beberapa produk perawatan tubuh, dan pembawa yang baik pada obat sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas obat dalam tubuh (Gutierrez, et al., 2008).

Ditinjau dari kesehatan, minyak kelapa sawit mempunyai keunggulan jika dibandingkan dengan minyak nabati lainnya karena mengandung beta karoten sebagai provitamin A dan vitamin E. Vitamin E selalu diunggulkan ampuh untuk memerangi radikal bebas karena vitamin E membantu melawan radikal bebas, yang bermanfaat bagi kulit dan membantu mencegah pembentukan kerutan dengan mencegah kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh sinar ultraviolet. Betakaroten merupakan provitamin A yang akan diubah menjadi vitamin A. Vitamin A ini berguna bagi proses metabolisme.

Sukrosa monoester merupakan surfaktan non ionik yang mengandung sukrosa sebagai gugus hidrofilik dan asam lemak sebagai gugus lipofilik yang sedang dikembangkan dalam pembuatan nanopartikel. Sukrosa monoester tidak berbau, tidak berasa, tidak toksik dan tidak mengiritasi kulit, sehingga bisa digunakan pada pembuatan makanan, obat-obatan, kosmetik dan produk farmasi lainnya. Sukrosa monoester memiliki kapasitas emulsi yang besar, dimana fase terdispersi yang dapat diemulsikan lebih

banyak dibanding pengemulsi lain (Kagaku, 2002). Berdasarkan keunggulan – keunggulan tersebut, pengembangan nanoemulsi dengan minyak sawit sebagai fase minyak dan sukrosa monoester sebagai surfaktan diharapkan dapat memberikan kestabilan yang lebih baik.

Carbopol digunakan pada sebagian besar sediaan cair atau sediaan semisolid berkenaan dengan fungsinya sebagai agen pengental dan pensuspensi. Sifatnya mudah mengembang dalam air dan mengental. Carbopol memiliki beberapa kelebihan diantaranya merupakan pengental yang baik dan efisien bahkan pada konsentrasi rendah sehingga digunakan sebagai pensuspensi, pengental serta penstabil pada emulsi, pasta, salep, dan gel. Carbopol stabil pada temperatur tinggi dan bersifat antimikroba (Jeon, 2007).

Pada penelitian ini akan dilihat beberapa parameter fisika yang terkait dengan ukuran droplet serta kestabilan sediaan, antara lain distribusi ukuran droplet atau *polydispersity Index* (PDI), zeta potensial serta kecepatan pemisahan nanoemulsi tanpa dan dengan penggunaan zat pengental (Carbopol) yang berfungsi sebagai penstabil. Nanoemulsi minyak sawit (palm oil) yang dihasilkan diharapkan dapat digunakan sebagai pembawa pada sediaan kosmetik dan sediaan farmasi lainnya untuk meningkatkan penetrasi atau absorpsi zat aktif pada kulit sehingga zat aktif akan lebih mudah diserap oleh tubuh.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

ZetaSizer Apparatus (Malvern), Mastersizer 2000 Apparatus (Malvern), Stability Analyzer(Lumifuge®), timbangan, hot plate, termometer, batang pengaduk, dan alat-alat gelas lainnya.

### Bahan

Minyak kelapa sawit (Palm Oil), sukrosa monoesterstearat / SME stearat (S-1670 Ryoto®), sukrosa monoesterlaurat / SME

laurat (L-1695 Ryoto®), sukrosa monoesterpalmitat / SME palmitat (P-1670 Ryoto®), gliserol / gliserin, air suling, carbopol 934 dan carbopol 940, NaOH 0,1 M.

### Pemeriksaan bahan baku

- a. Minyak kelapa sawit (Palm oil) dilakukan berdasarkan standar departemen perindustrian minyak kelapa sawit meliputi pemerian dan kelarutan.

- b. Pemeriksaan gliserol dilakukan berdasarkan Farmakope Indonesia edisi IV meliputi pemerian dan kelarutan.
- c. Pemeriksaan sukrosa monoester laurat, sukrosa monoester stearat, sukrosa monoesterpalmitat, carbopol 934 dan carbopol 940 dilakukan berdasarkan standar yang telah ditentukan Mitshubishi-Kagaku *Food Corporation* dan *Handbook of Pharmaceutical Exipients* meliputi pemerian, kelarutan dan titik leleh.

*Pembuatan nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil)*

Nanoemulsi dibuat secara manual dengan metoda *phase inversion temperature*. Fase minyak yang digunakan berupa minyak kelapa sawit (palm oil), dipanaskan hingga mencapai suhu 80°C. Surfaktan yang digunakan dilarutkan dalam fase air (gliserol) dengan pemanasan sampai mencapai suhu 80°C. Kemudian minyak diteteskan sedikit demi sedikit ke dalam larutan gliserol dan surfaktan sambil diaduk hingga homogen,

yang dilakukan pada suhu 80°C. Temperatur yang digunakan pada fase inversi ini sesuai dengan temperatur yang digunakan pada penelitian terdahulu (Corizzona, 2005). Selanjutnya emulsi yang terbentuk diaduk kuat dan kencang hingga dingin untuk mendapatkan ukuran droplet yang lebih kecil, sehingga terbentuk nanoemulsi. Formula dibuat dalam berbagai perbandingan untuk memperoleh komposisi surfaktan dan kosurfaktan yang menghasilkan nanoemulsi terbaik. Formula yang digunakan pada pembuatan nanoemulsi terdiri atas formula SME Stearat dengan SME Laurat dan SME Palmitat dengan SME lauradengan rasio surfaktan : minyak masing-masing berturut-turut adalah 1:4, 1:5, dan 1:6. Pada masing-masing rasio surfaktan : minyak dilakukan variasi terhadap konsentrasi campuran surfaktan dengan persentase perbandingan pada setiap campuran SME stearat:SME laurat dan campuran SME palmitat:SME laurat masing-masing adalah 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 dan 100:0. Berikut adalah tabel formula yang digunakan pada pembuatan nanoemulsi. (Tabel I – VI).

Tabel I. Formula nanoemulsi dengan variasi konsentrasi Palm Oil dan 1:4 Stearat dengan Laurat

Formula	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Gliserol (g)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
SME Stearat (g)		0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	1,05	1,2	1,35	1,5
SME Laurat (g)	1,5	1,35	1,2	1,05	0,90	0,75	0,60	0,45	0,30	0,15	
Minyak (g)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Tabel II. Formula nanoemulsi dengan variasi konsentrasi Palm Oil dan 1:4 Palmitat dengan laurat

Formula	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Gliserol (g)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
SME Palmitat (g)		0,15	0,30	0,45	0,60	0,75	0,90	1,05	1,2	1,35	1,5
SME Laurat (g)	1,5	1,35	1,2	1,05	0,90	0,75	0,60	0,45	0,30	0,15	
Minyak (g)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Tabel III. Formula nanoemulsi dengan variasi konsentrasi Palm Oil dan 1:5 Stearat dengan Laurat

Formula	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Gliserol (g)	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
SME Stearat (g)		0,12	0,24	0,36	0,48	0,6	0,72	0,84	0,96	1,08	1,2
SME Laurat (g)	1,2	1,08	0,96	0,84	0,72	0,6	0,48	0,36	0,24	0,12	
Minyak (g)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Tabel IV. Formula nanoemulsi dengan variasi konsentrasi Palm Oil dan 1:5 Palmitat dengan Laurat

Formula	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Gliserol (g)	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8	3,8
SME Palmitat (g)		0,12	0,24	0,36	0,48	0,6	0,72	0,84	0,96	1,08	1,2
SME Laurat (g)	1,2	1,08	0,96	0,84	0,72	0,6	0,48	0,36	0,24	0,12	
Minyak (g)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Tabel V. Formula nanoemulsi dengan variasi konsentrasi Palm Oil dan 1:6 Stearat dengan Laurat

Formula	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Gliserol (g)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
SME Stearat (g)		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
SME Laurat (g)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	
Minyak (g)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Tabel VI. Formula nanoemulsi dengan variasi konsentrasi Palm Oil dan 1:6 Palmitat dengan Laurat

Formula	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Gliserol (g)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
SME Palmitat (g)		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
SME Laurat (g)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	
Minyak (g)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Pada setiap nanoemulsi yang dihasilkan dilakukan analisa ukuran partikel dan stabilitas fisika yang meliputi penentuan ukuran droplet, distribusi ukuran droplet (PDI), zeta potensial, kecepatan pemisahan dan pengaruh zat pengental (Carbopol)

sebagai stabilisator terhadap nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil).

*Penentuan ukuran droplet serta distribusi ukuran partikel (polydispersity index / PDI) nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil)*

Sediaan nanoemulsi diambil secukupnya lalu diencerkan dengan air suling sebanyak 50 ml. Pada penggunaan Mastersizer, unit pendispersi yang terdapat pada *Mastersizer* harus dibilas terlebih dahulu menggunakan air suling sebelum dan sesudah penggunaan alat. Selanjutnya air suling dimasukkan ke dalam tabung unit pendispersi sebanyak sepertiga tabung, kecepatan pengadukan *stirer* diatur pada kecepatan 1500-1510, kemudian dilakukan pengukuran *background*. Sampel nanoemulsi yang telah diencerkan dimasukkan ke tabung pendispersi sampai batas tertentu, dilakukan pengukuran dengan prinsip kerja alat yang berdasarkan difraksi sinar laser. Pada penggunaan zetasizer, sampel nanoemulsi yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dilakukan pengukuran dengan prinsip *Dynamic Light Scattering*. Data yang dihasilkan berupa ukuran droplet, kurva distribusi droplet, keseragaman distribusi droplet (*polydispersity index* / PDI).

#### *Penentuan Zeta Potensial nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil)*

Zeta potensial droplet diukur dengan menggunakan *Zetasizer*. Nanoemulsi diencerkan dalam air secukupnya, lalu dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dilakukan pengukuran terhadap zeta potensial menggunakan zetasizer dengan prinsip *Dynamic Light Scattering*.

#### *Penentuan Kecepatan Pemisahan*

Kecepatan pemisahan ditentukan menggunakan *Stability Analyzer Lumifuge®*. Penyiapan sampel dilakukan dengan mengencerkan nanoemulsi dengan air suling secukupnya, lalu disuntikkan ke dalam kuvet. Alat dijalankan selama 1 jam dengan kecepatan 2624 rpm untuk mendapatkan stabilitas setara dengan 1 bulan dengan kecepatan pemisahan dalam mm/tahun.

#### *Pengaruh zat pengental (Carbopol) sebagai stabilisator terhadap kecepatan pemisahan nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil)*

Zat pengental yang digunakan adalah Carbopol 934 dan Carbopol 940. Carbopol dibuat dalam bentuk gel dengan konsentrasi berturut – turut 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%. Pembuatan gel carbopol dilakukan dengan menambahkan sejumlah air ke dalam serbuk carbopol sedikit demi sedikit kemudian diaduk sampai homogen. Penyesuaian pH dilakukan dengan penambahan NaOH 0,1M sampai pH 5,5. Selanjutnya penyiapan sampel untuk uji stabilitas nanoemulsi dilakukan dengan menambahkan gel carbopol ke dalam nanoemulsi yang telah diencerkan dengan air suling. Adapun komposisi sampel uji dapat dilihat pada table VII.

Tabel VII. Komposisi sampel uji stabilitas nanoemulsi

Sampel uji	Nano emulsi (g)	Air (g)	Susoensi Carbopol (g)
Krim C 0%	1	3	0
Krim C 0,25%	1	2,75	0,25
Krim C 0,5%	1	2,5	0,5
Krim C 0,75%	1	2,25	0,75
Krim C 1%	1	2	1

#### Keterangan:

- Krim C 0% = sampel uji nanoemulsi dengan konsentrasi carbopol 0%.
- Krim C 0,25% = sampel uji nanoemulsi dengan konsentrasi carbopol 0,25%
- Krim C 0,5% = sampel uji nanoemulsi dengan konsentrasi carbopol 0,5%
- Krim C 0,75% = sampel uji nanoemulsi dengan konsentrasi carbopol 0,75%
- Krim C 1% = sampel uji nanoemulsi dengan konsentrasi carbopol 1%



Masing-masing sampel uji dibuat sebanyak 4 gram lalu disuntikkan ke dalam kuvet. Selanjutnya dilakukan uji stabilitas menggunakan *Stability Analyzer Lumifuge*<sup>®</sup> yang menunjukkan kecepatan pemisahan dalam mm/waktu.

#### *Analisa data*

Data yang diperoleh berupa angka-angka yang menunjukkan ukuran partikel, PDI,

zeta potensial dan kecepatan pemisahan nanoemulsi. Dari data ini dilihat komposisi minyak kelapa sawit (palm oil) dan surfaktan terbaik yang menghasilkan nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil) dengan kriteria mempunyai ukuran droplet < 500 nm, PDI < 0,1, nilai zeta potensial besar dari  $\pm 30$  mV, memiliki kecepatan pemisahan yang kecil dari 0,5 mm/tahun.

## HASIL DAN DISKUSI

#### *Hasil Pemeriksaan Bahan Baku*

Hasil pemeriksaan minyak kelapa sawit (palm oil) memenuhi standar departemen perindustrian minyak kelapa sawit. Hasil pemeriksaan gliserol memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia edisi IV. Hasil pemeriksaan sukrosa monoester laurat, sukrosa monoester stearat, sukrosa monoester palmitat, carbopol 934 dan carbopol 940 memenuhi standar yang ditetapkan Mitsubishi-Kagaku Food Corporation dan persyaratan *Handbook of Pharmaceutical Exipients*.

*Hasil uji stabilitas nanoemulsi menggunakan Stability Analyzer (Lumifuge<sup>®</sup>), terhadap formula 1:4; 1:5; 1:6 dengan konsentrasi SME laurat 100% berdasarkan pengukuran kecepatan pemisahan / laju sedimentasi yang dipengaruhi oleh penambahan carbopol 934 dan carbopol 940.*

1. Hasil uji stabilitas nanoemulsi selama satu bulan menggunakan carbopol 934 dan carbopol 940 dengan konsentrasi 0% (tanpa penambahan carbopol), 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1% berkisar antara 68,54 mm/tahun - 0,01 mm/tahun. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 6 tabel XXI-XXII.
2. Grafik perbandingan stabilitas nanoemulsi terhadap penggunaan

carbopol pada berbagai konsentrasi yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi carbopol terhadap kecepatan pemisahan dapat dilihat pada lampiran 7 gambar 22 - 27.

3. Grafik perbandingan stabilitas nanoemulsi terhadap formula 1:4; 1:5; 1:6 dengan konsentrasi SME-laurat 100% dapat dilihat pada lampiran 8 gambar 28 - 37.
4. Profil stabilitas Nanoemulsi dapat dilihat pada lampiran 9 gambar 38 - 40.

Optimasi jenis dan konsentrasi surfaktan dalam pembuatan Nanoemulsi dan evaluasi nanoemulsi. Hasil penentuan ukuran droplet menggunakan *Mastersizer* berkisar antara 146 nm - 590 nm sedangkan penentuan ukuran droplet menggunakan *zetasisizer* berkisar antara 140 nm - 470 nm, hasil pengukuran nilai zetapotensial berkisar antara -32 mV - -48 mV, keseragaman puncak distribusi droplet (PDI) berkisar antara 0,074 - 0,340. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel VII - XII. Grafik perbandingan ukuran droplet nanoemulsi pada tiap komposisi formula yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi surfaktan dengan ukuran droplet yang dihasilkan, dapat dilihat pada gambar 1-6. Kurva distribusi ukuran droplet dan kurva zeta potensial dapat dilihat pada gambar 7-15.

Tabel VII. Hasil analisa perbandingan stearat dengan laurat (1:4)

<b>Data</b>	<b>Size (um)</b>	<b>Size (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>zeta Potensial (mV)</b>
1:4 0% L	0,337	257,4	0,11	-40,7
1:4 10% S/L	0,156	190,3	0,1	-43,9
1:4 20% S/L	0,152	173,2	0,086	-44,1
1:4 30% S/L	0,147	167,2	0,092	-43,2
1:4 40% S/L	0,149	167,8	0,106	-44,5
1:4 50% S/L	0,177	176,9	0,106	-48,2
1:4 60% S/L	0,179	175,6	0,11	-40
1:4 70% S/L	0,192	177,2	0,11	-44,5
1:4 80% S/L	0,198	177,9	0,143	-48,4
1:4 90% S/L	0,257	193,9	0,174	-46,5
1:4 100% S	0,435	308	0,2	-44,9

Tabel VIII. Hasil analisa perbandingan palmitat dengan laurat (1:4)

<b>Data</b>	<b>Size (um)</b>	<b>Size (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>zeta Potensial (mV)</b>
1:4 0% L	0,337	257,4	0,11	-40,7
1:4 10% P/L	0,156	165,8	0,119	-32,7
1:4 20% P/L	0,153	168,6	0,097	-34,8
1:4 30% P/L	0,193	177,8	0,074	-33,4
1:4 40% P/L	0,171	179,2	0,117	-35,4
1:4 50% P/L	0,183	180,6	0,133	-36,8
1:4 60% P/L	0,205	182,7	0,122	-33,8
1:4 70% P/L	0,261	199,1	0,157	-34,5
1:4 80% P/L	0,253	199,2	0,189	-36,6
1:4 90% P/L	0,334	224,2	0,184	-34,7
1:4 100% P	0,490	430,5	0,190	-36,5

Tabel IX. Hasil analisa perbandingan stearat dengan laurat (1:5)

<b>Data</b>	<b>Size (um)</b>	<b>Size (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>zeta Potensial (mV)</b>
1:5 0% L	0,156	172,2	0,076	-42,1
1:5 10% S/L	0,225	180,2	0,132	-41,7
1:5 20% S/L	0,21	183,6	0,151	-39,6
1:5 30% S/L	0,265	202,2	0,184	-43,2
1:5 40% S/L	0,339	231,2	0,214	-42,6
1:5 50% S/L	0,28	198,5	0,156	-39
1:5 60% S/L	0,269	217,2	0,152	-39,3
1:5 70% S/L	0,362	241	0,212	-41,2
1:5 80% S/L	0,296	245,3	0,207	-40,6
1:5 90% S/L	0,373	249,8	0,217	-43,8
1:5 100% S	0,480	405,3	0,219	-42,4

Tabel X. Hasil analisa perbandingan palmitat dengan laurat (1:5)

<b>Data</b>	<b>Size (um)</b>	<b>Size (nm)</b>	<b>PDI</b>	<b>zeta Potensial (mV)</b>
1:5 0% L	0,156	172,2	0,076	-42,1
1:5 10% P/L	0,181	176,7	0,99	-42,6
1:5 20% P/L	0,258	192	0,126	-40,8
1:5 30% P/L	0,316	198,5	0,139	-41,9
1:5 40% P/L	0,265	194,6	0,154	-44,5
1:5 50% P/L	0,23	192,5	0,109	-42,1
1:5 60% P/L	0,241	192,7	0,123	-37,6
1:5 70% P/L	0,246	194,3	0,142	-34,5
1:5 80% P/L	0,231	185,9	0,145	-35,4
1:5 90% P/L	0,305	201,5	0,152	-38,5
1:5 100% P	0,470	390,7	0,163	-39,8

Tabel XI. Hasil analisa perbandingan stearat dengan laurat (1:6)

Data	Size (um)	Size (nm)	PDI	zeta Potensial (mV)
1:6 0% L	0,291	201,8	0,163	-44,6
1:6 10% S/L	0,146	140,5	0,152	-40,1
1:6 20% S/L	0,28	224,3	0,182	-43,2
1:6 30% S/L	0,263	201,5	0,146	-41,6
1:6 40% S/L	0,291	207,2	0,128	-44,7
1:6 50% S/L	0,373	249,9	0,211	-39,1
1:6 60% S/L	0,384	250,7	0,235	-39,6
1:6 70% S/L	0,449	275,2	0,263	-41,4
1:6 80% S/L	0,498	288,7	0,324	-40,7
1:6 90% S/L	0,576	328,2	0,338	-42,6
1:6 100% S	0,590	450,6	0,340	-45,1

Tabel XII. Hasil analisa perbandingan palmitat dengan laurat (1:6)

Data	Size (um)	Size (nm)	PDI	zeta Potensial (mV)
1:6 0% L	0.291	201,8	0.163	-44.6
1:6 10% P/L	0.28	197,3	0.143	-41.1
1:6 20% P/L	0.302	207,3	0.158	-37.4
1:6 30% P/L	0.292	200,2	0.133	-35.3
1:6 40% P/L	0.308	217,5	0.158	-38.9
1:6 50% P/L	0.364	228	0.19	-35.5
1:6 60% P/L	0.339	215,3	0.179	-36
1:6 70% P/L	0.328	224,3	0.224	-33.2
1:6 80% P/L	0.366	241,8	0.201	-37
1:6 90% P/L	0.541	306,2	0.319	-36.4
1:6 100% P	0.580	470.4	0.337	-38,8

Ukuran droplet yang kecil dapat dicapai melalui metoda standar *phase inversion temperature* dengan rasio minyak-surfaktan yang tepat. Kenaikan temperatur akan mengurangi tegangan antarmuka dan viskositas sehingga memungkinkan terjadinya emulsifikasi. Pada *phase inversion temperature* transisi terjadi dari sistem emulsi minyak-air (M/A) pada temperatur rendah menjadi sistem emulsi air-

minyak (A/M) pada temperatur yang lebih tinggi. Temperatur dimana terjadinya inversi tergantung pada konsentrasi pengemulsi. Suatu emulsi minyak-air yang distabilkan dengan surfaktan non ionik maka ketika temperatur dinaikkan, kelarutan surfaktan dalam air akan berkurang, akibatnya misel pecah, ukuran tetesan minyak yang teremulsi akan meningkat. Selanjutnya surfaktan yang pada temperatur tersebut tidak larut air mulai

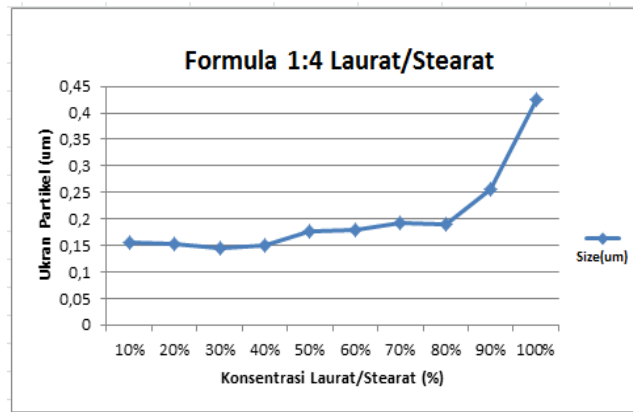
membentuk emulsi air dalam minyak yang mengandung misel-misel gelembung air dan tetesan-tetesan air teremulsi dalam suatu fase minyak sehingga terjadilah perubahan tipe emulsi dari emulsi minyak dalam air menjadi emulsi air dalam minyak (Lachman, 1994).

Selama proses pembuatan nanoemulsi ada beberapa hal penting yang harus diperhatikan diantaranya, temperatur saat melarutkan surfaktan harus dijaga tetap pada suhu 80°C, karena jika suhu terlalu tinggi akan menyebabkan surfaktan rusak sehingga tidak memberikan hasil yang maksimal. Selain itu saat pencampuran minyak dan larutan surfaktan temperatur harus dijaga tetap pada suhu 80°C untuk membantu proses emulsifikasi. Penurunan temperatur bisa menyebabkan kegagalan pembentukan nanoemulsi karena pada temperatur inilah pembentukan droplet dengan ukuran nano akan maksimal sehingga mampu menghasilkan nanoemulsi. Intensitas pencampuran fase minyak ke dalam larutan surfaktan juga harus diperhatikan, minyak ditetaskan sedikit demi sedikit kemudian di aduk untuk menghindari penggabungan fase minyak. Setelah proses pencampuran fase minyak selesai, dilakukan pengadukan kencang atau pengocokan kuat pada emulsi sampai dingin. Kekuatan pengadukan saat pencampuran fase minyak ke dalam fase air berperan besar dalam pembentukan nanoemulsi, makin kuat pengadukan makin besar kemungkinan terbentuknya ukuran droplet yang kecil. Proses pembuatan dan pengerjaan akan sangat mempengaruhi nanoemulsi yang dihasilkan.

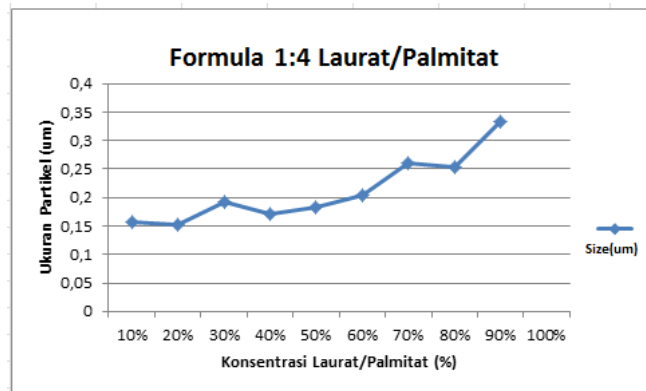
Pada penelitian ini nanoemulsi dibuat dengan 3 rasio surfaktan-minyak yang berbeda, (1:4, 1:5, 1:6). Pemilihan surfaktan dan

konsentrasinya didasarkan pada orientasi formula dan penelitian terdahulu. Zat pengemulsi yang digunakan adalah sukrosa monoester (sukrosa monoester laurat / SME laurat / L-1695, sukrosa monoester stearat / SME stearat / S-1670, sukrosa monoester palmitat / SME palmitat / P-1670) yang merupakan surfaktan nonionik yang sedang dikembangkan dalam pembuatan nanopartikel. Ketiga surfaktan tersebut memiliki panjang rantai yang berbeda tergantung pada jenis asam lemak yang terikat pada sukrosanya. Surfaktan dengan rantai hidrokarbon yang panjang akan meningkatkan kerja pelindung sterik sehingga dapat meminimalisir kemungkinan penggabungan antar partikel atau droplet (Voight, 1994). Sukrosa monoester memiliki beberapa keunggulan diantaranya ; tidak berasa, tidak berbau, dan tidak toksik sehingga baik dan cocok sebagai pengemulsi makanan ; tidak mengiritasi mata dan kulit sehingga cocok untuk produk kosmetik (Kagaku, 2010).

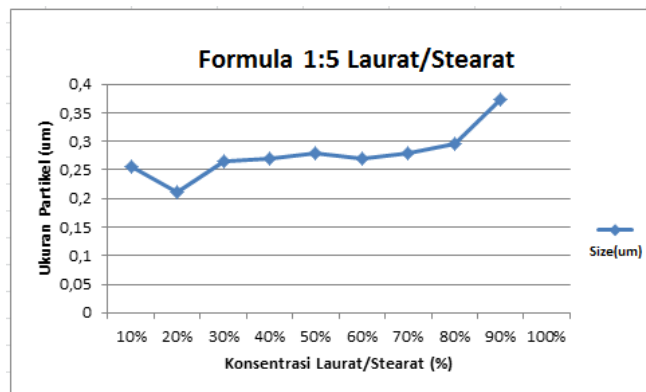
Pada masing-masing perbandingan surfaktan-minyak digunakan campuran 2 surfaktan dengan berbagai konsentrasi yaitu campuran sukrosa monoester stearat-sukrosa monoester laurat (SME stearat (S-1670) - SME laurat (L-1695)) dan campuran sukrosa monoester palmitat-sukrosa monoester laurat (SME palmitat (P-1670) - SME laurat (L-1695)). Dari ketiga jenis surfaktan tersebut dapat dilihat kombinasi surfaktan mana yang menghasilkan nanoemulsi terbaik dengan membandingkan ukuran droplet, zeta potensial, dan keseragaman distribusi partikel yang dihasilkan. Dari data tersebut kemudian di analisa kestabilan emulsi serta dilakukan uji stabilitas.



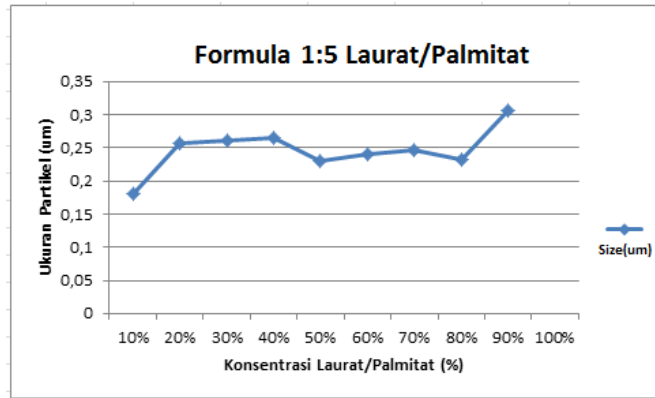
Gambar 1. Grafik hubungan antara ukuran partikel dan konsentrasi surfaktan pada formula 1:4 laurat/stearat



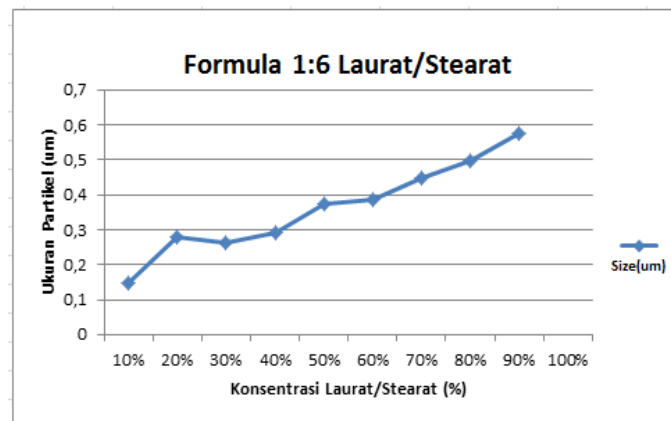
Gambar 2. Grafik hubungan antara ukuran partikel dan konsentrasi surfaktan pada formula 1:4 laurat/palmitat



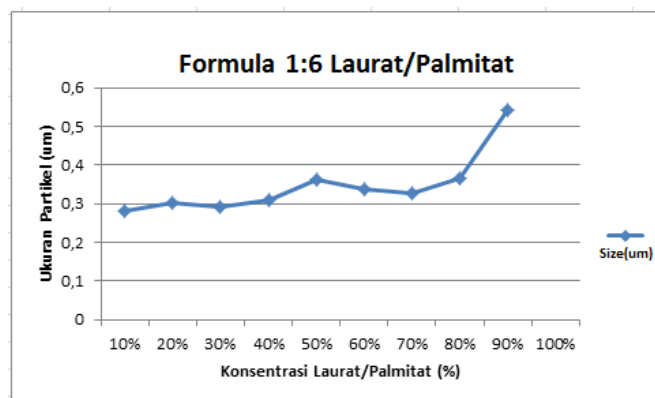
Gambar 3. Grafik hubungan antara ukuran partikel dan konsentrasi surfaktan pada formula 1:5 laurat/stearat



Gambar 4. Grafik hubungan antara ukuran partikel dan konsentrasi surfaktan pada formula 1:5 laurat/pamitat



Gambar 5. Grafik hubungan antara ukuran partikel dan konsentrasi surfaktan pada formula 1:6 laurat/stearat



Gambar 6. Grafik hubungan antara ukuran partikel dan konsentrasi surfaktan pada formula 1:6 laurat/palmitat

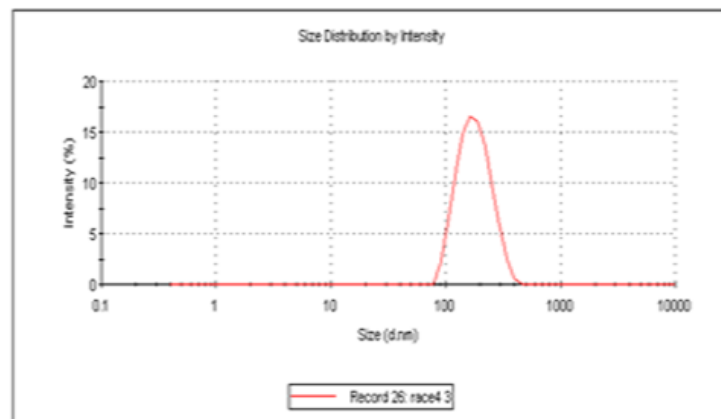
Dari hasil yang diperoleh terlihat pada grafik (gambar 1-6) bahwa ada pengaruh perbedaan konsentrasi surfaktan terhadap

ukuran partikel. Pada penggunaan SME laurat secara tunggal diperoleh droplet dalam ukuran nanometer. Penambahan SME stearat

ataupun SME palmitat pada konsentrasi 10% meningkatkan ukuran droplet walaupun tidak terlalu besar, dimana peningkatan ukuran droplet  $< 100\text{nm}$ . Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh proses pengerjaan, seperti terlalu tingginya suhu sewaktu pemanasan surfaktan, dan karena pengocokan yang dilakukan secara manual sehingga tekanan yang diberikan bervariasi. Selanjutnya terlihat penurunan ukuran droplet sampai pada konsentrasi tertentu seiring dengan peningkatan konsentrasi SME stearat pada campuran SME stearat-SME laurat, ataupun peningkatan konsentrasi palmitat pada campuran SME palmitat-SME laurat, yang menunjukkan komposisi dan kondisi optimal dalam pembentukan nanoemulsi, seperti yang terlihat pada formula 1:4 30% S/L dan 1:4 20% P/L. Hal ini sesuai dengan argumen sterik (ruang) oleh Schulman dan Cockbain yang menyatakan bahwa pengemulsi campuran lebih efektif daripada pengemulsi tunggal (Lachman, 1994). Setelah kondisi optimal pembentukan nanoemulsi tersebut tercapai, terjadi kenaikan ukuran droplet secara bertahap seiring dengan peningkatan konsentrasi SME stearat pada campuran

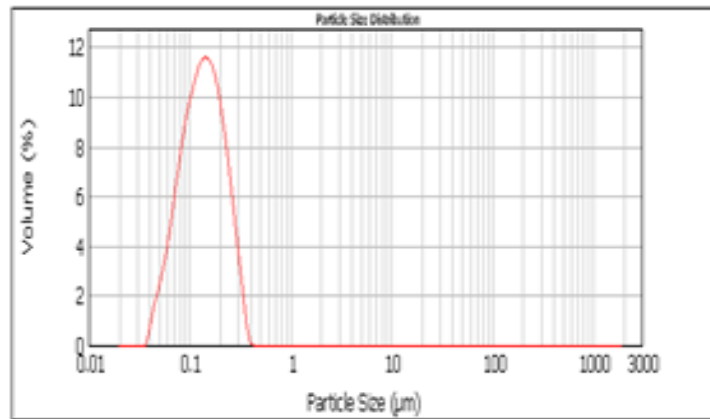
SME stearat-SME laurat, ataupun peningkatan konsentrasi palmitat pada campuran SME palmitat-SME laurat. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh sifat surfaktan itu sendiri terhadap pembentukan ukuran droplet dan kestabilan suatu emulsi. Surfaktan dengan panjang rantai sedang memungkinkan surfaktan tersebut menghasilkan droplet yang lebih kecil, seperti SME laurat dengan panjang rantai carbon 12. Sebaliknya semakin panjang rantai surfaktan yang digunakan akan makin besar ukuran droplet yang terbentuk seperti pada penggunaan SME stearat 100% dengan panjang rantai karbon 18.

Perbedaan rasio surfaktan-minyak juga memberikan pengaruh terhadap ukuran droplet nanoemulsi walaupun tidak terlalu besar. Dari hasil yang diperoleh tampak bahwa ukuran droplet akan semakin meningkat dengan menurunnya rasio surfaktan. Ukuran droplet yang lebih kecil lebih mudah dihasilkan pada rasio surfaktan-minyak 1:4 dibanding rasio surfaktan-minyak 1:5 dan 1:6. Sedangkan rasio surfaktan-minyak 1:6 menghasilkan ukuran droplet yang lebih besar dibanding yang lainnya.

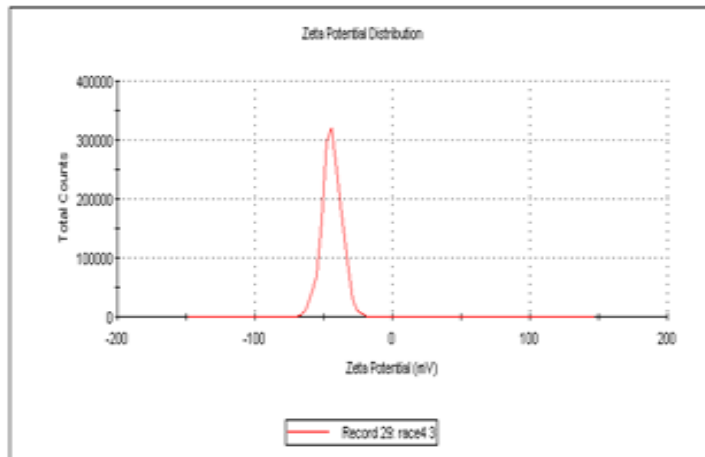


Gambar 7. Kurva distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula 1:4 30% laurat/stearat menggunakan Mastersizer.

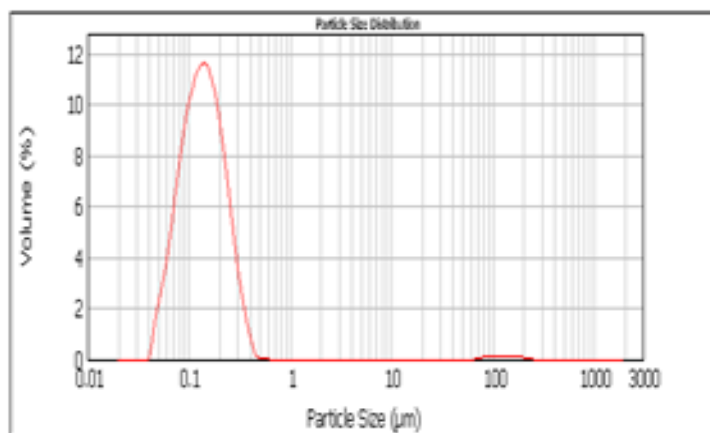




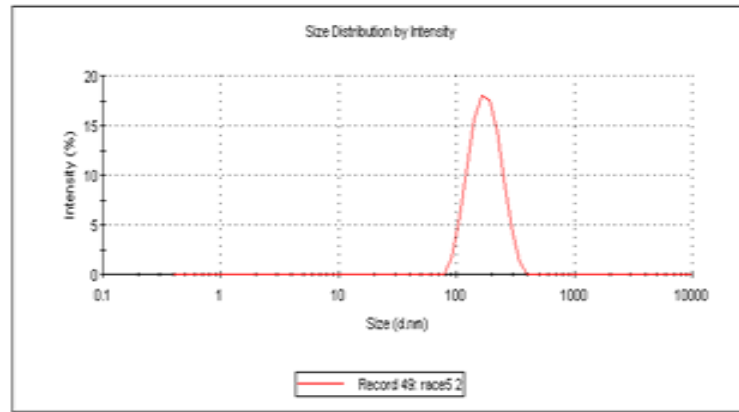
Gambar 8. Kurva distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula 1:4 30% laurat/stearat menggunakan Zetasizer



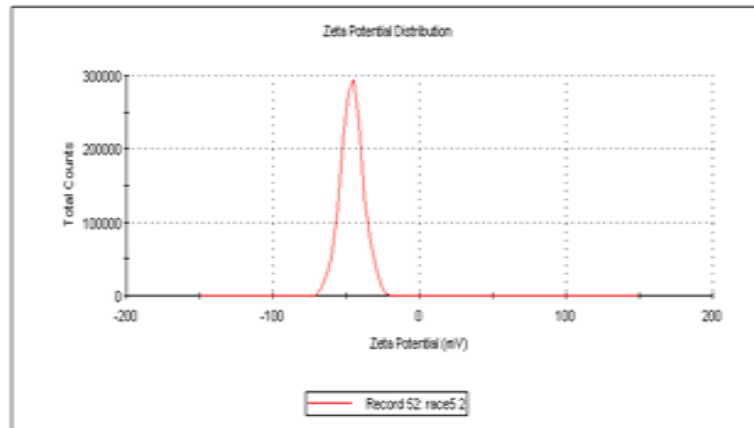
Gambar 9. Kurva zeta potensial nanoemulsi formula 1:4 30% laurat/stearat menggunakan Zetasizer.



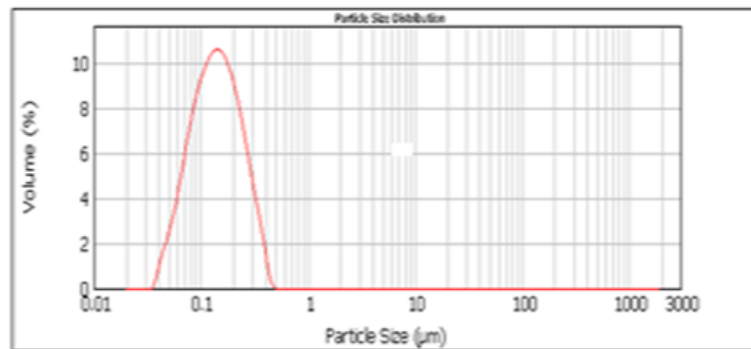
Gambar 10. Kurva distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula 1:6 10% laurat/stearat menggunakan Mastersizer.



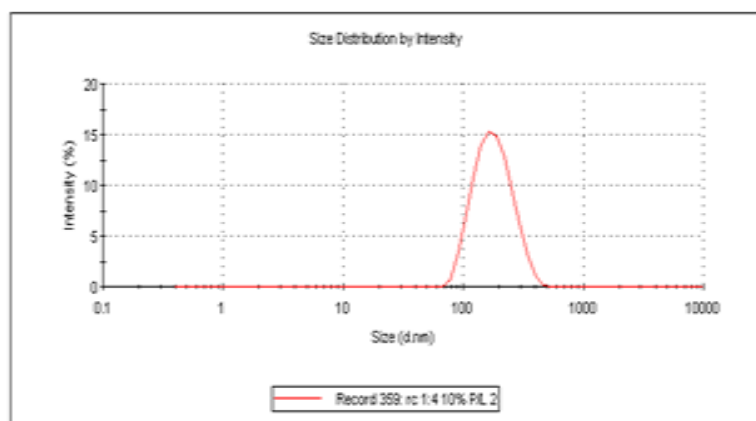
Gambar 11. Kurva distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula 1:6 10% laurat/stearat menggunakan Zetasizer.



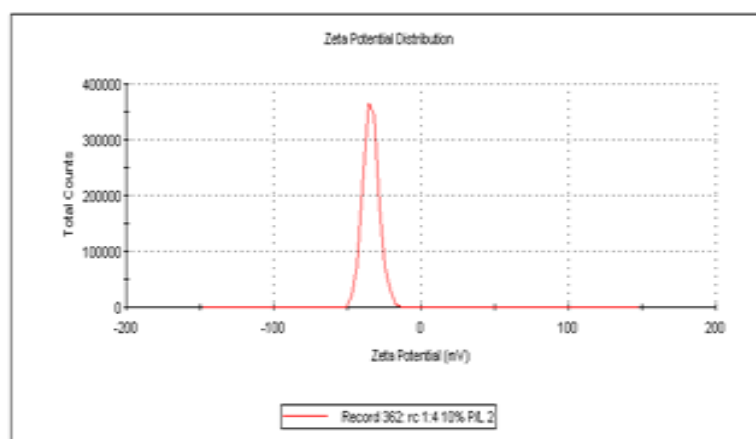
Gambar 12. Kurva zeta potensial nanoemulsi formula 1:6 10% laurat/stearat menggunakan Zetasizer.



Gambar 13. Kurva distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula 1:4 10% laurat/palmitat menggunakan Mastersizer.



Gambar 14. Kurva distribusi ukuran droplet nanoemulsi formula 1:4 10% laurat/palmitat menggunakan Zetasizer.



Gambar 15. Kurva zeta potensial nanoemulsi formula 1:4 10% laurat/palmitat menggunakan Zetasizer.

Ukuran partikel dari nanoemulsi ditentukan menggunakan *Mastersizer 2000* dan *Zetasizer* sedangkan zeta potensial hanya dapat ditentukan menggunakan *Zetasizer*. *Zetasizer* memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibanding *Mastersizer 2000* dan pengukuran yang dihasilkanpun lebih akurat, namun *Zetasizer* hanya dapat mengukur ukuran partikel yang kecil atau sama dengan 600nm. Sebelum pengukuran dilakukan menggunakan *Zetasizer*, sampel diukur terlebih dahulu menggunakan *Mastersizer 2000*, jika hasil pengukuran memperlihatkan ukuran  $\leq 600$  nm maka pengukuran dilanjutkan menggunakan *Zetasizer*. Dari hasil pengukuran *Mastersizer* diperoleh ukuran droplet yang berkisar antara 146 nm - 590 nm sedangkan hasil pengukuran

*Zetasizer* memberikan ukuran droplet yang berkisar antara 140 nm - 470 nm. Perbedaan hasil pengukuran ini disebabkan sensitivitas alat yang berbeda.

Keseragaman distribusi ukuran droplet / *polydispersity index* (PDI) dapat diketahui berdasarkan pengukuran menggunakan *Zetasizer*. Dari hasil pengukuran diperoleh nilai PDI yang berkisar antara 0,074 - 0,340 dan menunjukkan kurva dengan satu puncak. Semakin kecil nilai PDI makin tinggi tingkat keseragaman distribusi ukuran droplet dan makin sempit kurva distribusi droplet yang dihasilkan. PDI yang kecil dari 0,1 memberikan gambaran keseragaman ukuran droplet nanoemulsi yang baik, dimana nanoemulsi memiliki ukuran droplet yang seragam. Dari hasil pengukuran PDI yang

berkisar antara 0,074 - 0,340, umumnya di peroleh nilai PDI yang lebih besar dari 0,1 yang berarti menunjukkan tingkat keseragaman distribusi ukuran droplet yang masih rendah. (Gambar 7 – 15)

Zeta potensial yang dihasilkan dari pengukuran *Zetasizer* terhadap seluruh formula nanoemulsi berkisar antara -32 mV sampai dengan -48mV. Nilai zeta potensial bisa digunakan untuk memprediksi dan mengontrol stabilitas fisika suatu sistem emulsi. Kestabilan suatu emulsi buruk jika nilai zeta potensial kecil dari |30|, dan suatu emulsi dikatakan stabil jika nilai zeta besar dari |30|. Dari nilai zeta yang dihasilkan tampak bahwa nanoemulsi cenderung stabil. Nilai positif (+) dan negatif (-) pada zeta potensial menunjukkan pH, positif (+) jika pH rendah (Asam) dan negatif (-) jika pH tinggi (Basa).

Penambahan Carbopol 934 dan 940 dengan berbagai konsentrasi (0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%) terhadap nanoemulsi ditujukan untuk melihat pengaruhnya terhadap kestabilan nanoemulsi melalui kecepatan pemisahan yang di ukur menggunakan *Stability Analyzer (Lumifuge®)*. Pengujian stabilitas nanoemulsi dilakukan pada formula dengan penggunaan SME laurat 100% pada setiap rasio surfaktan minyak (3 formula; 1:4; 1:5; 1:6). Formula ini dipilih karena hasil pengukuran dropletnya sudah memenuhi syarat nanoemulsi. Dari hasil pengukuran *Stability Analyzer (Lumifuge®)* pada 3 formula tersebut diperoleh besarnya kecepatan pemisahan berkisar antara 68,54 mm/tahun – 0,01 mm/tahun seperti yang terlihat pada , tabel XIII –XIV.

Tabel XIII. Hasil uji stabilitas nanoemulsi menggunakan carbopol 940

Konsentrasi	0%	0,25% (C 940)	0,50% (C 940)	0,75% (C 940)	1% (C 940)
1:4 0%	15,25	0,02	0,13	0,9	0,46
1:5 0%	26,3	40,2	0,9	0,7	0,004
1:6 0%	12,3	0,32	0,23	0,13	0,15

Tabel XIV. Hasil uji stabilitas nanoemulsi menggunakan carbopol 934

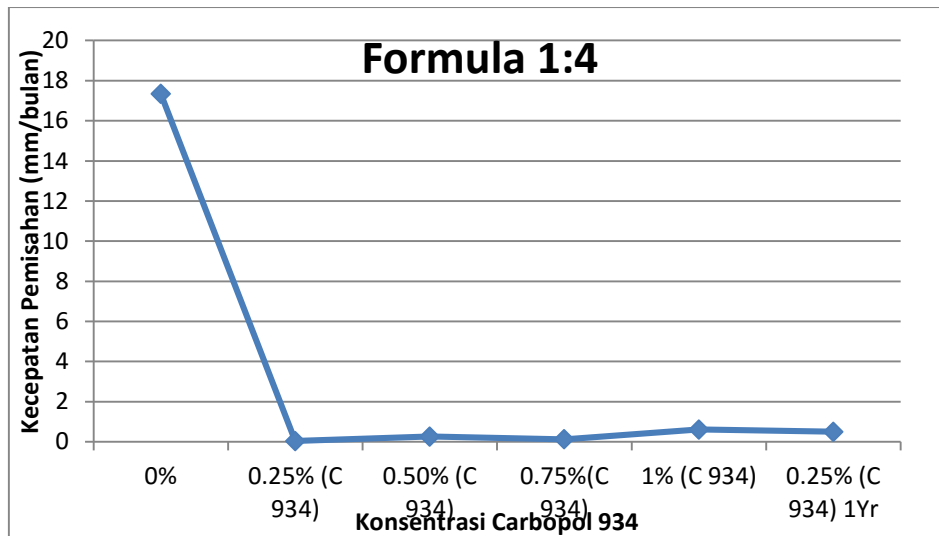
Konsentrasi	0%	0,25% (C 934)	0,50% (C 934)	0,75% (C 934)	1% (C 934)
1:4 0%	17,35	0,04	0,26	0,13	0,61
1:5 0%	39,26	68,54	0,11	0,93	0,0006
1:6 0%	24,28	0,44	0,003	0,012	0,02

Pada penggunaan Carbopol 934 dengan konsentrasi 0,25% pengurangan kecepatan pemisahan nanoemulsi tidak begitu besar, sedangkan pada penggunaan Carbopol 940 pada konsentrasi 0,25% kecepatan pemisahan nanoemulsi berkurang cukup drastis. Hal ini menunjukkan bahwa Carbopol 940 pada konsentrasi 0,25% lebih efektif dibanding Carbopol 934 pada konsentrasi 0,25% karena pada konsentrasi kecil Carbopol 940 mampu memberikan pengurangan kecepatan pemisahan yang

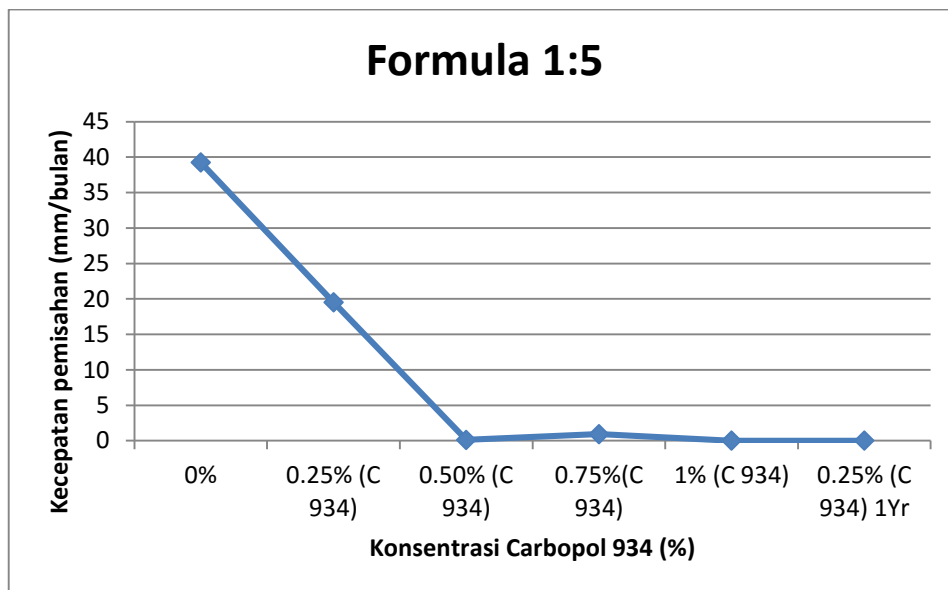
lebih besar dibanding Carbopol 934, seperti yang terlihat pada gambar 16 - 21. Dari grafik tersebut tampak bahwa tanpa penggunaan carbopol diperoleh kecepatan pemisahan nanoemulsi yang besar, namun dengan penggunaan carbopol secara bertahap dari konsentrasi 0.25% - 1% kecepatan pemisahan nanoemulsi akan berkurang sampai pada konsentrasi optimal (konsentrasi yang memberikan kecepatan pemisahan minimum). Pada konsentrasi optimal penggunaan Carbopol 934,

diperoleh kecepatan pemisahan minimum sebesar 0,01 mm/tahun (tabel XIII), sedangkan pada konsentrasi optimal

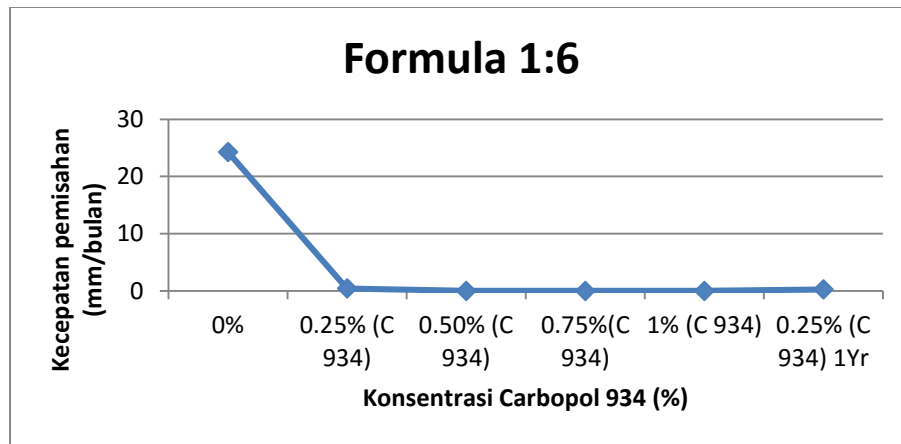
penggunaan Carbopol 940 diperoleh kecepatan pemisahan sebesar 0,02 mm/tahun (tabel XIV).



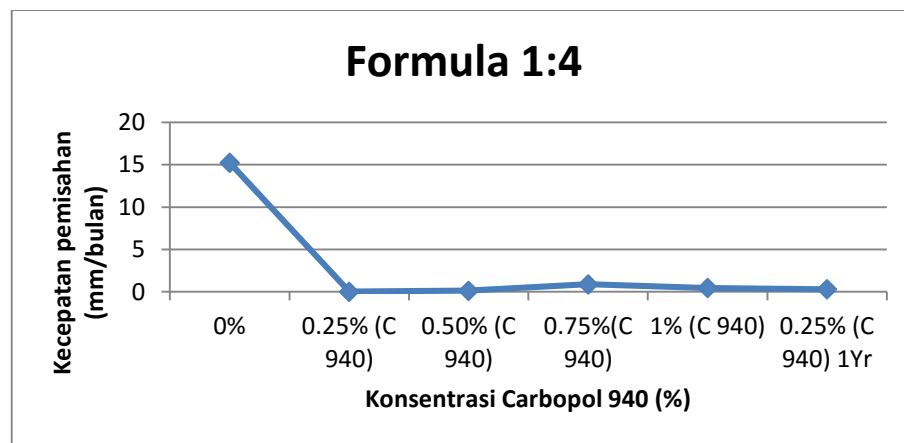
Gambar 16. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 934 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:4) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



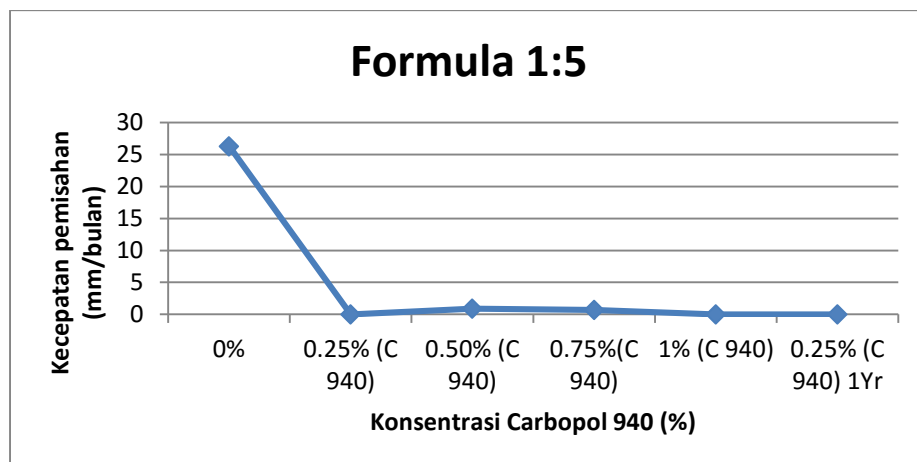
Gambar 17. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 934 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



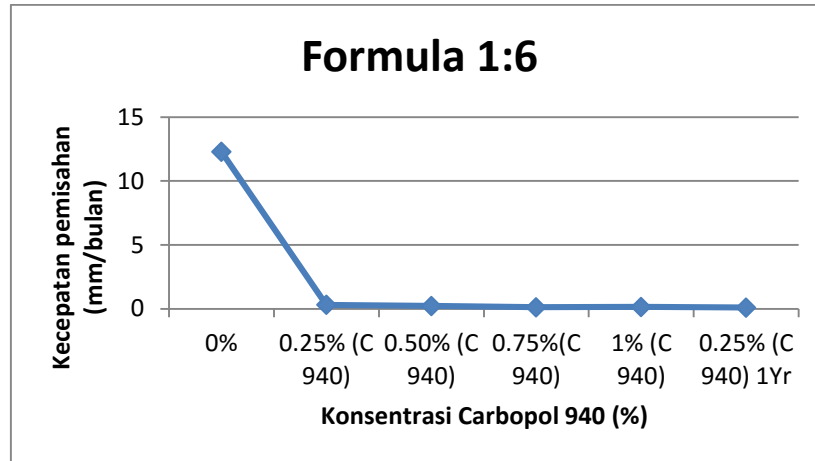
Gambar 18. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 934 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



Gambar 19. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 940 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:4) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



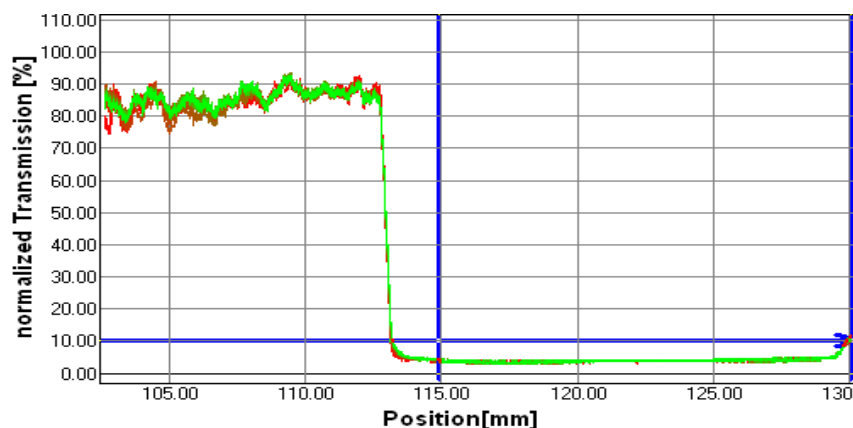
Gambar 20. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 940 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



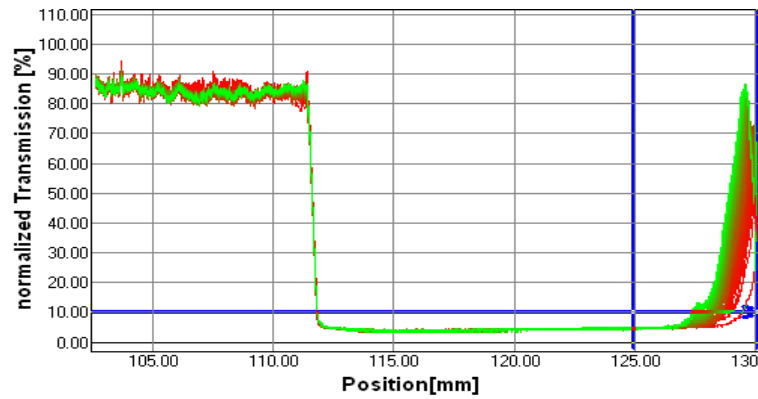
Gambar 21. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 940 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100%.

Nilai kecepatan pemisahan yang kecil memperlihatkan stabilitas nanoemulsi yang baik. Penambahan carbopol menyebabkan nanoemulsi menjadi lebih kental. Kemampuan carbopol sebagai agen pengental memberikan viskositas yang tinggi yang mampu memperlambat gerakan partikel, akibatnya laju pengendapan partikel atau kecepatan pemisahan sediaan menjadi lebih lambat sehingga nanoemulsi yang dihasilkan relatif stabil (Jarupa, et al., 2003). Carbopol 940 memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan Carbopol 934. Hal ini memungkinkan Carbopol 940 memberikan kecepatan pemisahan yang lebih kecil dibanding Carbopol 934.

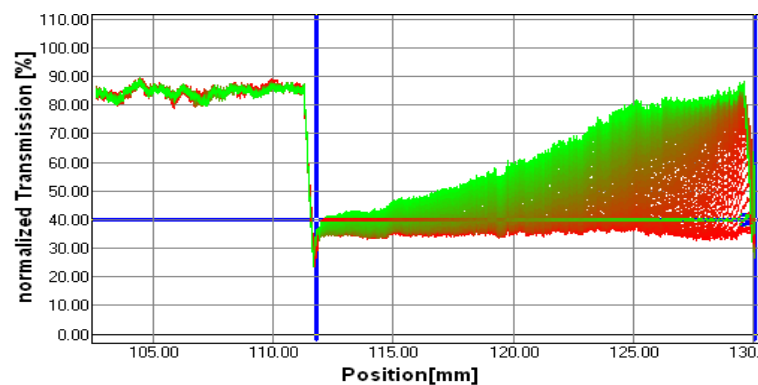
Berdasarkan profil stabilitas nanoemulsi yang terlihat pada gambar 22 - 24, adanya sedimentasi atau pemisahan pada nanoemulsi ditunjukkan dengan besarnya transmisi yang diperoleh. Daerah dimana dispersi tercampur dengan baik (tidak terdapat sedimentasi) akan menghamburkan dan mengabsorpsi cahaya sehingga transmisinya rendah (seperti yang terlihat pada gambar 25). Sebaliknya jika dispersi kurang tercampur dengan baik (terdapat sedimentasi) maka cahaya yang diabsorpsi akan semakin banyak sehingga transmisi akan meningkat (seperti yang terlihat pada gambar 27).



Gambar 25. Profil Stabilitas nanoemulsi yang baik



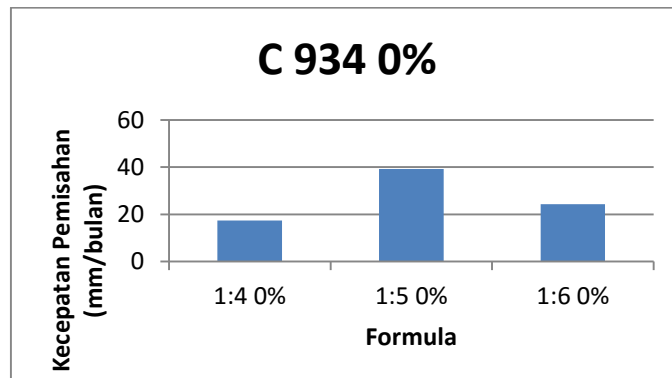
Gambar 26. Profil Stabilitas nanoemulsi yang cukup baik



Gambar 27. Profil Stabilitas nanoemulsi yang buruk

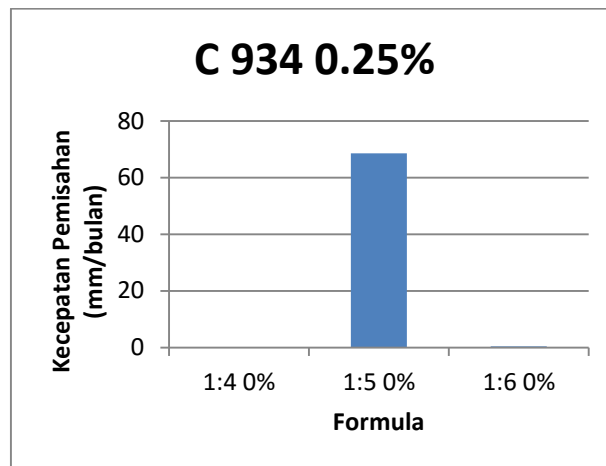
Perbandingan stabilitas nanoemulsi pada formula (1:4) dengan konsentrasi SME laurat 100% dan formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100% serta formula (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100% (gambar 28-37) memperlihatkan bahwa formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100%

umumnya memberikan kecepatan pemisahan terkecil dibanding yang lainnya, yang menunjukkan bahwa ia memiliki stabilitas yang lebih baik. Nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil) yang terbaik dapat digunakan sebagai basis untuk obat-obat lipofil dengan tujuan pemakaian transdermal.

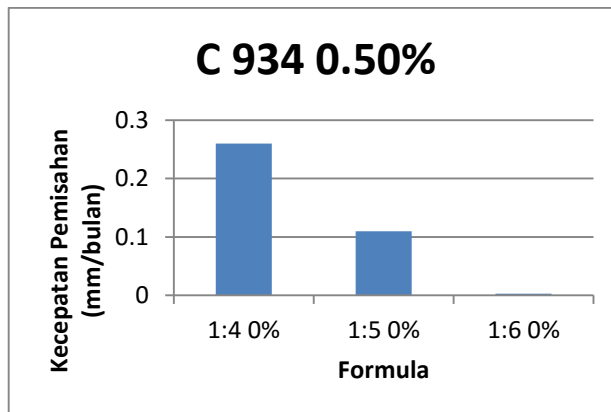


Gambar 28. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0%.

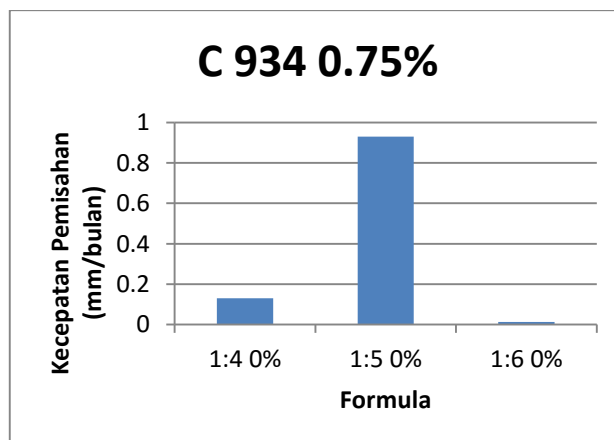




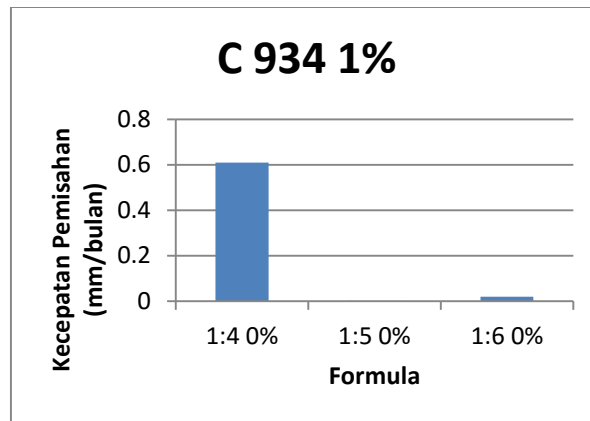
Gambar 29. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0.25%



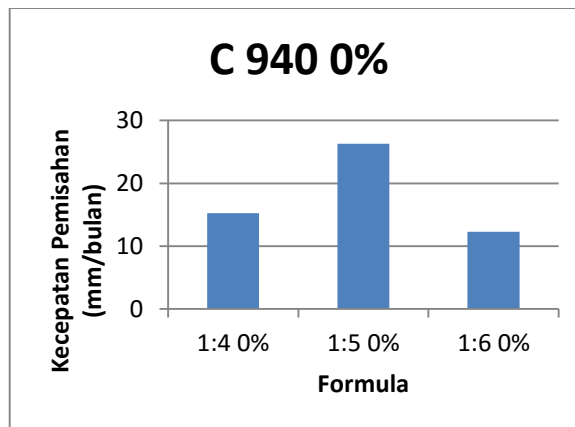
Gambar 30. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0.50%



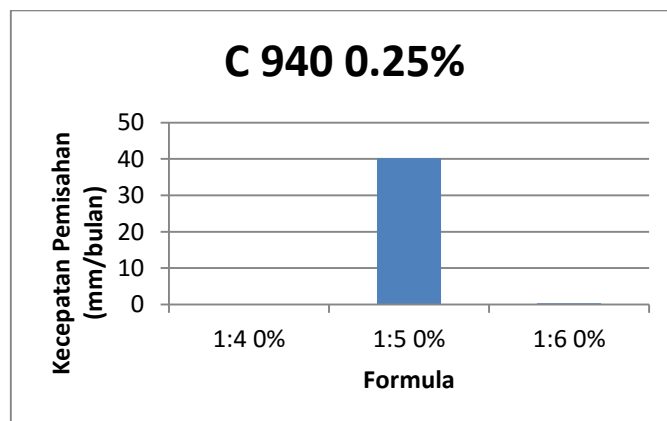
Gambar 31. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0.75%



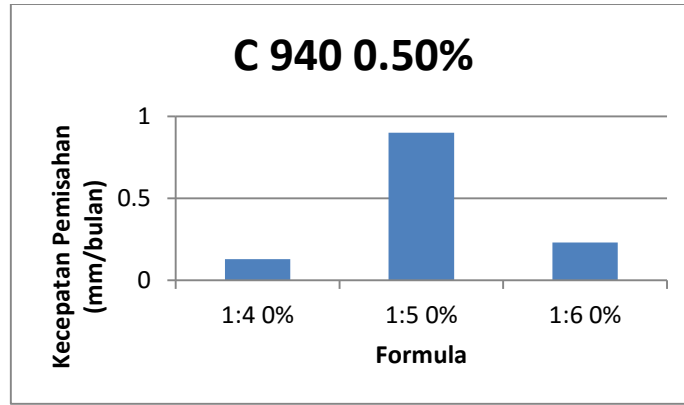
Gambar 32. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 1%



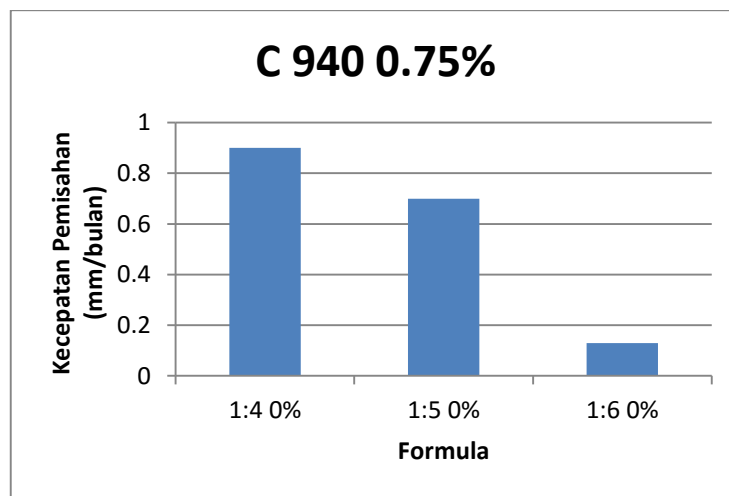
Gambar 33. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0%



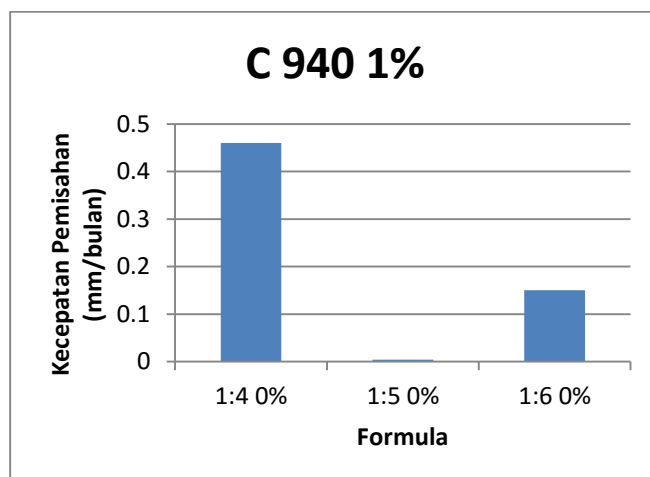
Gambar 34. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0.25%



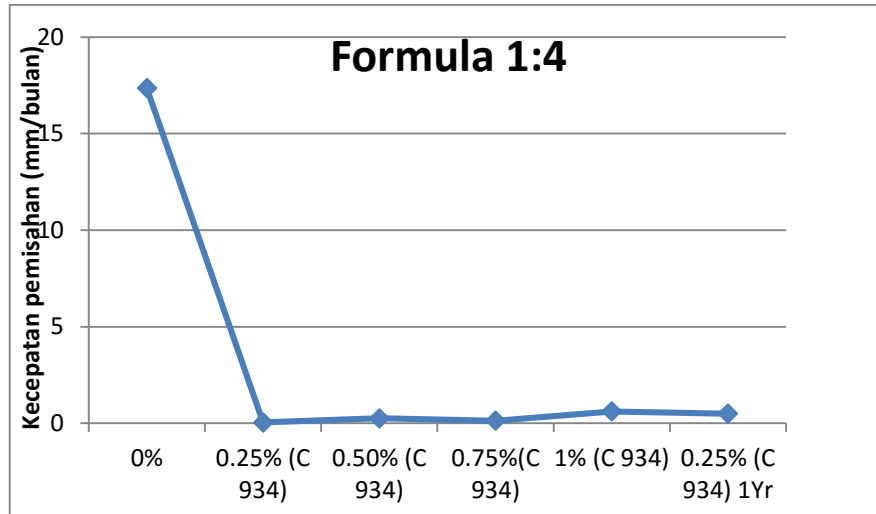
Gambar 35. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0.50%



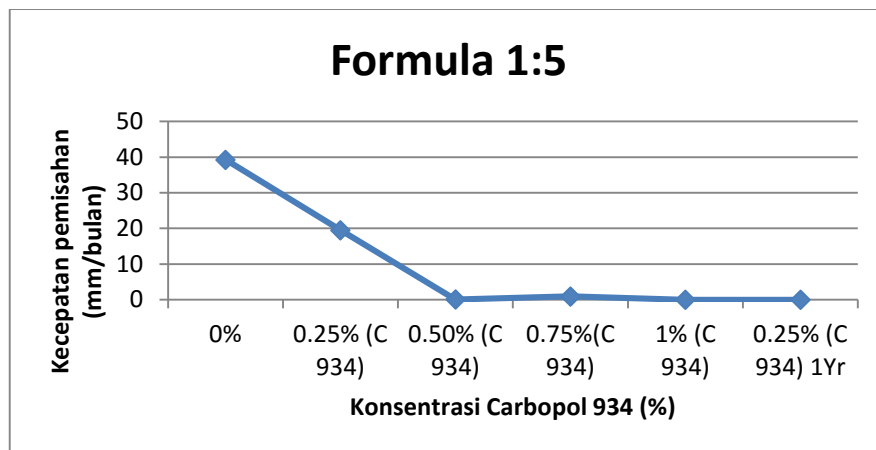
Gambar 36. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0.75%



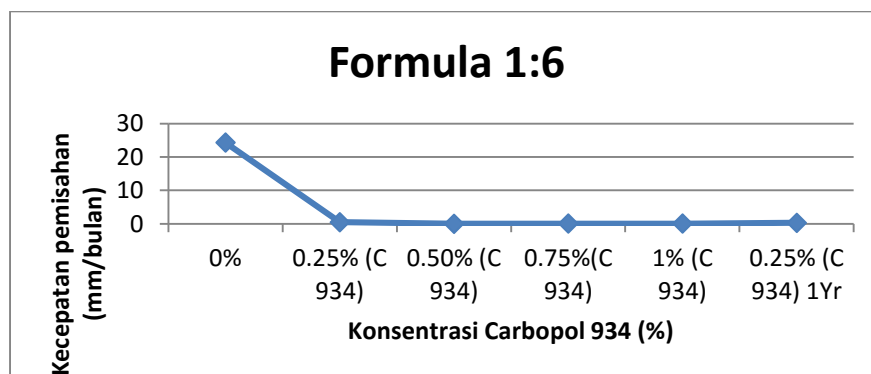
Gambar 37. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 1%



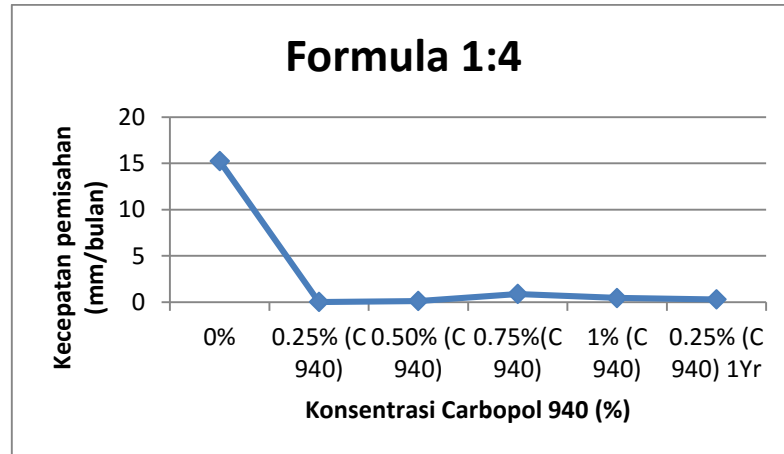
Gambar 16. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 934 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:4) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



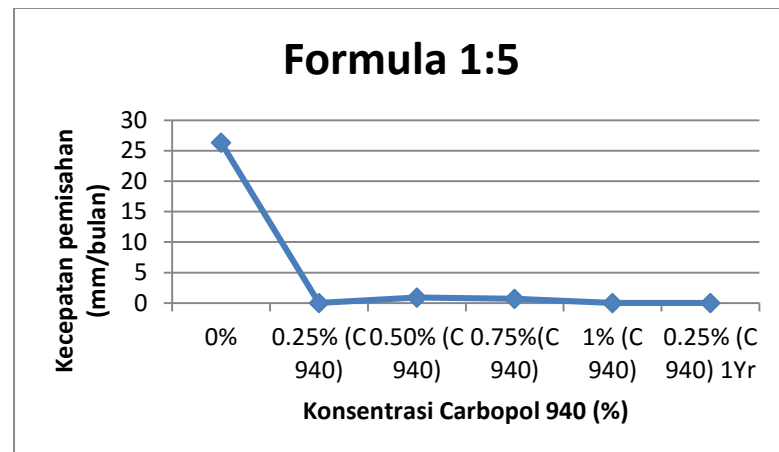
Gambar 17. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 934 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



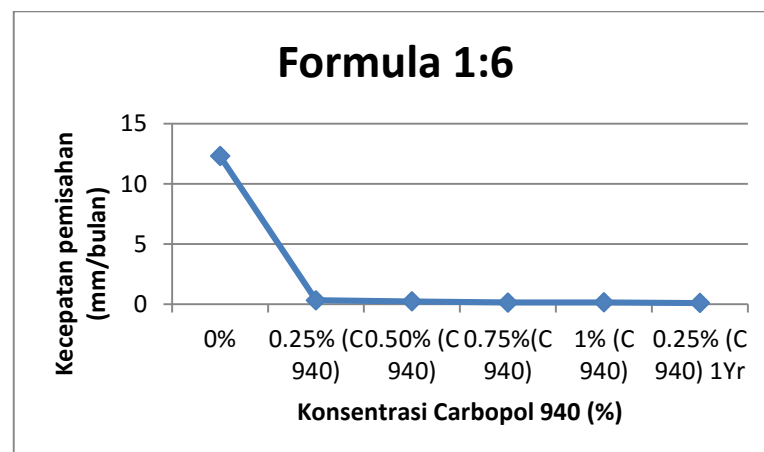
Gambar 18. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 934 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



Gambar 19. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 940 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:4) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



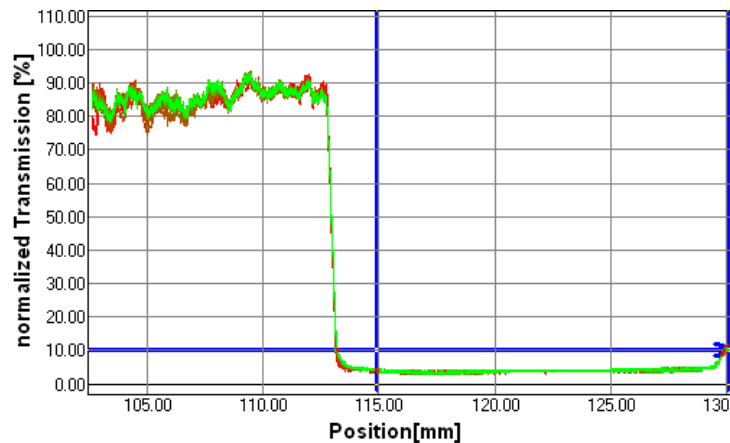
Gambar 20. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 940 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100%.



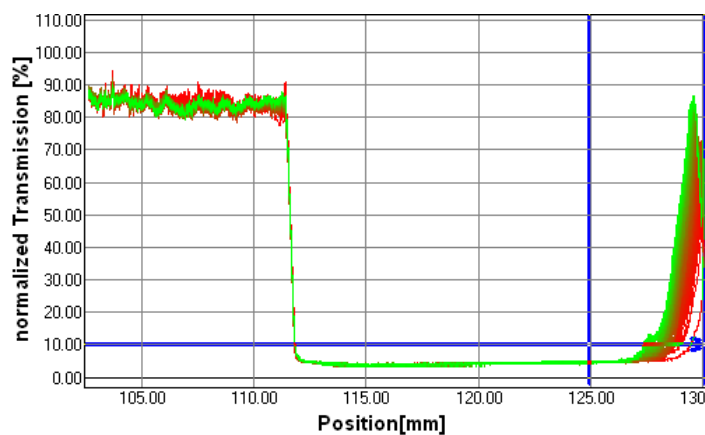
Gambar 21. Grafik hubungan antara konsentrasi carbopol 940 dengan kecepatan pemisahan pada formula (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100%.

Nilai kecepatan pemisahan yang kecil memperlihatkan stabilitas nanoemulsi yang baik. Penambahan carbopol menyebabkan nanoemulsi menjadi lebih kental. Kemampuan carbopol sebagai agen pengental memberikan viskositas yang tinggi yang mampu memperlambat gerakan partikel, akibatnya laju pengendapan partikel atau kecepatan pemisahan sediaan menjadi lebih lambat sehingga nanoemulsi yang dihasilkan relatif stabil (Jarupa, et al., 2003). Carbopol 940 memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan Carbopol 934. Hal ini memungkinkan Carbopol 940 memberikan kecepatan pemisahan yang lebih kecil dibanding Carbopol 934.

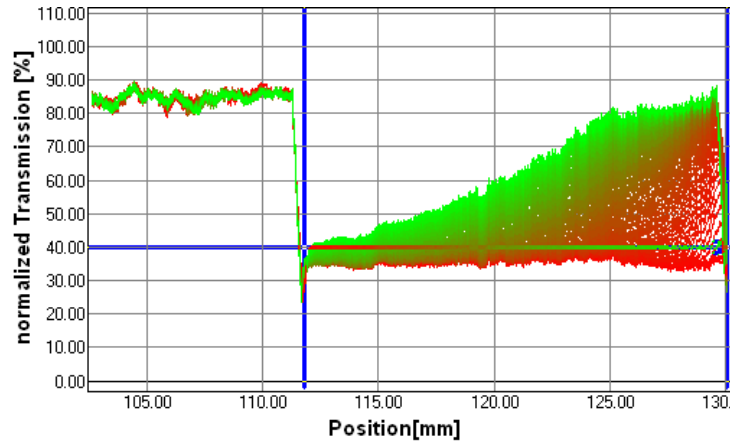
Berdasarkan profil stabilitas nanoemulsi yang terlihat pada gambar 22 - 24, adanya sedimentasi atau pemisahan pada nanoemulsi ditunjukkan dengan besarnya transmisi yang diperoleh. Daerah dimana dispersi tercampur dengan baik (tidak terdapat sedimentasi) akan menghamburkan dan mengabsorpsi cahaya sehingga transmisinya rendah (seperti yang terlihat pada gambar 25). Sebaliknya jika dispersi kurang tercampur dengan baik (terdapat sedimentasi) maka cahaya yang diabsorpsi akan semakin banyak sehingga transmisi akan meningkat (seperti yang terlihat pada gambar 27).



Gambar 25. Profil Stabilitas nanoemulsi yang baik



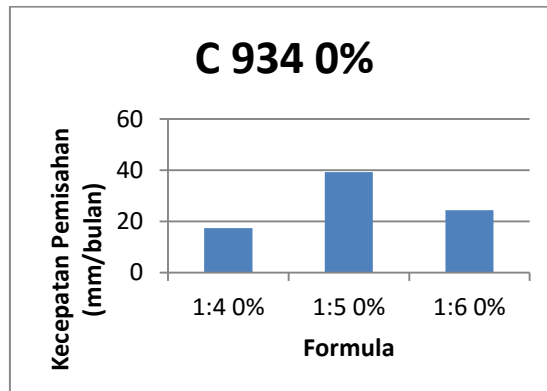
Gambar 26. Profil Stabilitas nanoemulsi yang cukup baik



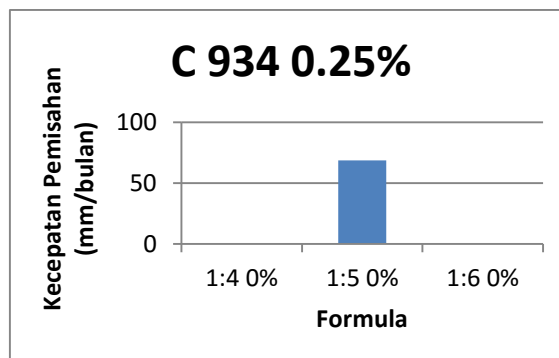
Gambar 27. Profil Stabilitas nanoemulsi yang buruk

Perbandingan stabilitas nanoemulsi pada formula (1:4) dengan konsentrasi SME laurat 100% dan formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100% serta formula (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100% (gambar 28-37) memperlihatkan bahwa formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100%

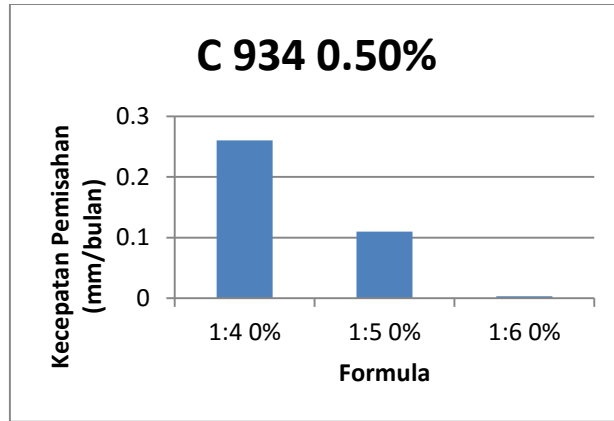
umumnya memberikan kecepatan pemisahan terkecil dibanding yang lainnya, yang menunjukkan bahwa ia memiliki stabilitas yang lebih baik. Nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil) yang terbaik dapat digunakan sebagai basis untuk obat-obat lipofil dengan tujuan pemakaian transdermal.



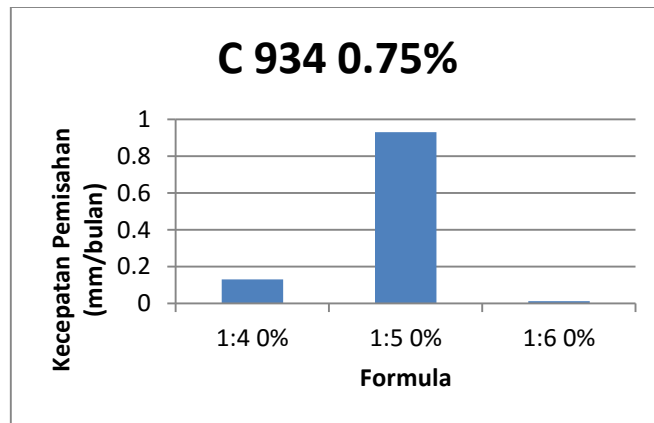
Gambar 28. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0%.



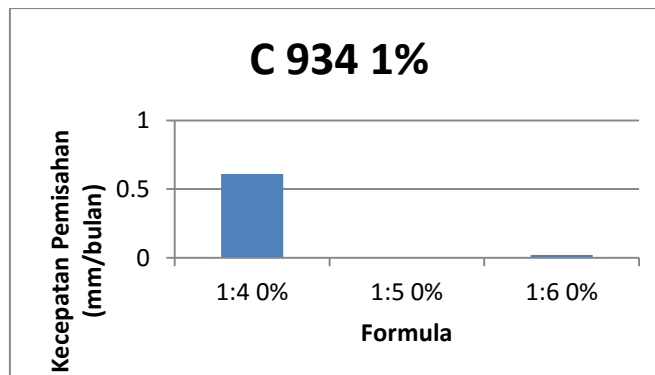
Gambar 29. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0.25%



Gambar 30. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0.50%

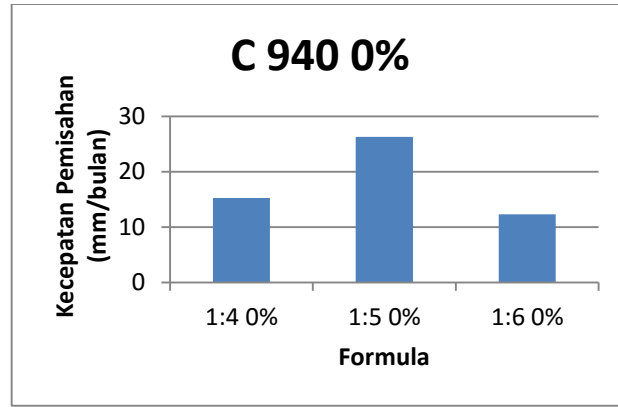


Gambar 31. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 0.75%

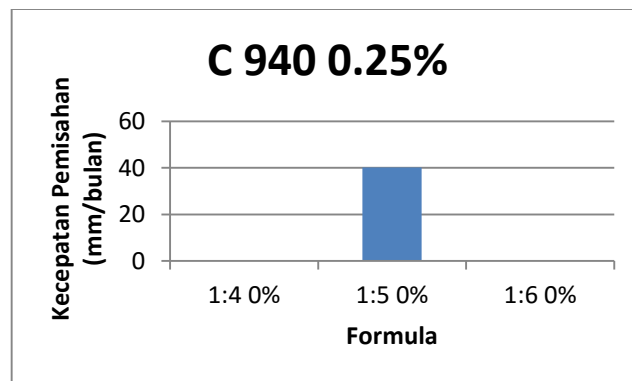


Gambar 32. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 934 dengan konsentrasi 1%

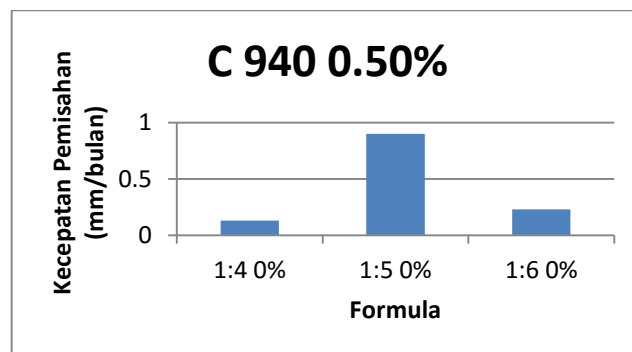




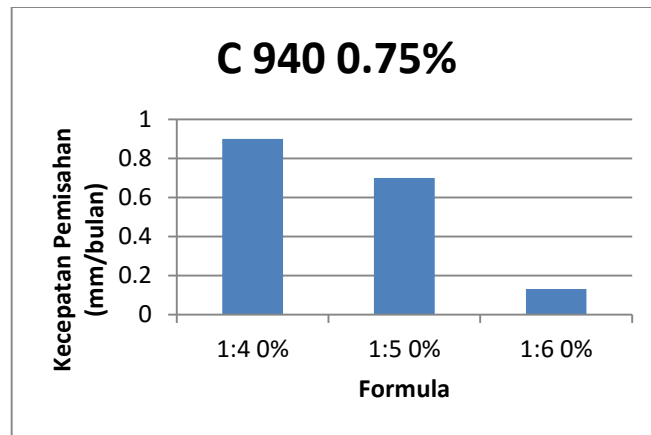
Gambar 33. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0%



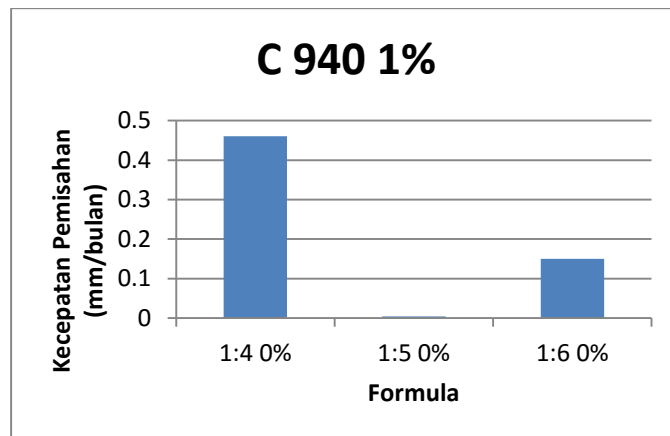
Gambar 34. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0.25%



Gambar 35. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0.50%



Gambar 36. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 0.75%



Gambar 37. Grafik perbandingan kecepatan pemisahan pada masing-masing formula pada penggunaan C 940 dengan konsentrasi 1%

## KESIMPULAN

### Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan ukuran droplet terkecil nanoemulsi maka komposisi optimal basis nanoemulsi yang diperoleh dari kombinasi sukrosa monoester stearat-sukrosa monoester laurat (SME stearat (S-1670) - SME laurat (L-1695)) serta kombinasi sukrosa monoester palmitat-sukrosa monoester laurat (SME palmitat (P-1670) - SME laurat (L-1695)) adalah formula 1:4 30% S/L, 1:4 20% P/L, 1:5 20% S/L, 1:5 10% P/L, 1:6 10% S/L, 1:6 10% P/L.
2. Berdasarkan penentuan kecepatan pemisahan maka formula (1:5) dengan konsentrasi SME laurat 100% memberikan stabilitas yang lebih baik dibanding formula(1:4) dan (1:6) dengan konsentrasi SME laurat 100%.
3. Penggunaan Carbopol 934 dan Carbopol 940 pada konsentrasi 0,25%, 0,5%, 0,75%, dan 1% mampu memperbaiki stabilitas nanoemulsi dengan mengurangi kecepatan pemisahan nanoemulsi.

4. Carbopol 940 lebih efektif dibanding Carbopol 934 karena pada konsentrasi rendah Carbopol 940 mampu memberikan pengurangan kecepatan pemisahan yang lebih besar dibanding Carbopol 934.

#### Saran

1. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melanjutkan studi

ini dan melakukan uji stabilitas pada semua formula agar stabilitas semua formula dapat dibandingkan.

2. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melanjutkan studi ini dan memformulasi sediaan topikal dari sistem nanoemulsi minyak kelapa sawit (palm oil) terbaik yang dihasilkan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M. 2000. *Ilmu meracik obat*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Corizonna. 2007. *Pengaruh kadar sugar monoester dan gliserol terhadap permeasi griseofulvin dalam D-phase gel nanoemulsi*. (Skripsi). Padang: Universitas Andalas.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope indonesia* (Edisi IV). Jakarta.
- Departemen Perindustrian. 2007. *Gambaran Sekilas Industri Minyak Kelapa Sawit*. Jakarta.
- Gutierrez, J.M., Gonzales, C., Maestro, A., Sole, I., Pey, C.M., & Nolla, J. 2008., Nano-emulsions : new applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid and Interface Sci.* 245-251.
- Haryono, A. 12 Januari 2009. *Pengembangan nanoemulsi dengan stabilizer dari turunan chitosan*, Diakses 24 Juli 2009 dr <http://nano.or.id>.
- Jarupa, V., Napaporn, K., & Watcharee, S.P. 2003. Development of oil-in-water emulsion containing tamarind fruit pulp extract I. physical characteristic and stability of emulsion. *Naresuan University Journal*, 29-49.
- Jeon, F.I.J. 2007. *Development and formulation of carbomer 934P-containing mucoadhesive pellets by fluid-bed techniques*. (Disertation). Jerman: Marthin luther university halle-wittenberg.
- Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig., & Joseph L. 1994. *Teori dan praktek industri II*. Penerjemah : Suyatmi, Siti. Jakarta: UI Press.
- Mitsubishi-Kagaku Food Corporation. 2002. Ryoto® sugar ester, Diakses juni 2010 dr <http://www.google.com>.
- Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Faisal, M.S., & Shafiq, S. 2008. Stability evaluation of celecoxib nanoemulsion containing tween 80. *Thai Journal Pharm. Sci.* 32, 4-9.
- Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., & Garcia-Celma, M.J. 2005. Nano-emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 102-110.
- Voight, R. 1989. *Tekhnologi farmasi edisi V*. Penerjemah: Ibrahim, F. Jakarta: UI.

## PENGARUH EKSTRAK DAUN JATI (*Tectona grandis* L.f) TERHADAP FUNGSI HATI DAN FUNGSI GINJAL PADA MENCIT PUTIH JANTAN

Elisma<sup>1</sup>, Novi Priyoka Putra<sup>1</sup> dan Helmi Arifin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Andalas

### ABSTRACT

Study about sub acute toxicity of jati leaf extract toward white male mice has been done, which consist of SGPT activity for liver function test, creatinine clearance for kidney function test and organ's weight ratio. The extract was administered orally once a day for 15, 30 and 45 days with variable dose of 150, 300 and 600 mg per kg body weight. The result showed that there were no significant effect of jati leaf extract administration to the SGPT activity, kidney function and organ's weight ratio ( $p > 0.05$ ).

**Keyword :** *Tectona grandis* L.f, SGPT activity, creatinine clearance and organ weight ratio

### PENDAHULUAN

Pengobatan secara tradisional telah dikenal sejak zaman dahulu. Dari segi pengobatan bangsa Romawi, Mesir, China, Persia, Ibrani dan Arab menunjukkan bahwa tanaman digunakan secara luas untuk mengobati hampir semua penyakit yang dikenal. Banyak tanaman memiliki kandungan yang berkhasiat sebagai obat, bila penggunaannya dilakukan secara tepat dan benar, bisa membantu penyembuhan (Tjitrosoepomo, 1994).

Salah satu tanaman yang digunakan untuk pengobatan tradisional adalah *Tectona grandis* L.f yang dikenal dengan daun jati. Jati merupakan tanaman paling banyak tersebar di Asia, yang menyebar luas mulai dari India, Myanmar, Laos, Kamboja, Thailand, China, sampai ke Indonesia. Jati digolongkan dalam famili Verbenaceae. Di Indonesia tanaman ini tumbuh di pulau Jawa, Sulawesi Selatan, Sulawesi tenggara, Nusa tenggara Barat (Sumbawa), Maluku, Lampung dan beberapa tempat lainnya (Dalimartha, 2006).

Daun jati (*Tectona grandis* L.f) dimanfaatkan secara tradisional sebagai pembungkus makanan, melangsingkan

tubuh, mengurangi kolesterol, mengecilkan perut, peluntur lemak dalam tubuh bagi penderita obesitas, sehingga membantu proses eksresi atau pembuangan kotoran. Daun jati yang masih muda secara tradisional digunakan sebagai pewarna makanan, kain dan tikar (Dalimartha, 2006). Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun jati juga dapat menurunkan glukosa darah (Swandari, 2004), serta sebagai antidiare (Jamaluddin, 2008).

Dari penelusuran pustaka dan penelitian sebelumnya telah dilakukan pemeriksaan fitokimia ekstrak etanol daun jati (*Tectona grandis* L.f). Diketahui bahwa kandungan kimia dari daun jati menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, saponin, tanin galat, tanin katekat, kuinon dan steroid atau triterpenoid. Dari hasil kromatografi kertas ekstrak etanol menunjukkan adanya senyawa asam fenolat (Hartati, 2005).

Dalam upaya peningkatan nilai guna *Tectona grandis* sebagai fitofarmaka, perlu dilakukan penelitian mengenai keamanan penggunaannya. Pertimbangan ini berdasarkan keputusan menteri kesehatan RI tentang pedoman fitofarmaka, dimana

dukungan penelitian terhadap fitofarmaka meliputi uji efek farmakologik, uji klinik, uji kualitas dan pengujian lain yang dipersyaratkan dan dilakukan dengan protokol uji yang jelas serta dapat dipertanggungjawabkan (Dirjen POM, 1996)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Apakah pemberian ekstrak daun jati secara sub akut berpengaruh terhadap fungsi hati dan fungsi ginjal pada mencit putih jantan.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Timbangan hewan, timbangan analitik, kandang metabolit, alat penampung urin, *Spektrofotometer Thermospectronic Genesis 20*, sentrifus, vortex, tabung reaksi, kaca arloji, labu ukur, pipet mikro, pipet tetes, gelas ukur, beaker glass, alat injeksi, lumpang dan stamper, alat bedah, sudip, spatel, pinset dan appendrof.

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak kental daun jati (*Tectona grandis*.Lf), air suling, Na CMC, mencit jantan putih yang berumur kurang lebih 2-3 bulan dengan berat badan 20 – 30 gram sebanyak 36 ekor, serum mencit, larutan pereaksi SGPT (Dyasis®) (Reagen 1:TRIS buffer pH 7,15 140 mmol/L, L-alanin 700 mmol/L; Reagen 2:2-oksaloasetat 85 mmol/L, NAD (Nikotinamid Adenin Dinukleotida) ). Larutan pereaksi kreatinin (Dyasis®) : NaOH ( 0, 2 mol/L), larutan asam pikrat ( 20 mmol/L) dan larutan standar kreatinin ( 2 mg.dL = 177 µmol/L ).

### Karakterisasi ekstrak (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

#### Uji organoleptis

Uji organoleptis meliputi bentuk, warna, rasa dan bau.

#### Susut pengeringan

- a. Cawan penguap ditara dan masukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit.

- b. Kemudian dinginkan di dalam desikator, timbang.
- c. Timbang ekstrak 2 g, masukkan ke dalam cawan yang telah ditara tadi, ratakan, timbang.
- d. Masukkan ke dalam oven, dan timbang pada setiap jarak satu jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%.

#### Kadar abu total

- a. Krus silikat ditara dan dipijarkan .
- b. Kemudian dinginkan di dalam desikator, timbang.
- c. Timbang ekstrak 2 g, masukkan dalam krus yang telah ditara tadi, timbang.
- d. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis.
- e. Kemudian dinginkan di dalam desikator, timbang.

#### Pengelompokan hewan uji

Hewan uji dibagi atas 4 kelompok (masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor). Kelompok I sebagai kontrol negatif , hanya diberi pensuspensi (Na CMC). Kelompok II merupakan kelompok perlakuan yang diberi dosis 150 mg/kg BB, kelompok III merupakan kelompok perlakuan yang diberi dosis 300 mg/kg BB, dan kelompok IV merupakan kelompok perlakuan yang diberi dosis 600 mg/kg BB. Sediaan uji diberikan secara oral.

#### Penyiapan hewan uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan yang sehat berumur ± 2-3 bulan dengan berat badan ± 20-30 g

sebanyak 36 ekor. Hewan diaklimatisasi selama 7 hari sebelum perlakuan. Hewan dinyatakan sehat apabila selisih berat badan sebelum dan sesudah diaklimatisasikan tidak lebih dari 10% dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal (Thompson, 1985).

### Perencanaan Dosis Uji

Dosis sediaan uji diberikan pada hewan percobaan adalah 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, dan 600 mg/kgBB yang diberikan secara oral.

### Penyiapan Sediaan Uji

Sediaan uji yang digunakan adalah ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f) yang didispersikan dalam air suling dengan bantuan Na CMC 0,5% sebagai pensuspensi. Berat ekstrak kental etanol yang akan didispersikan ditimbang berdasarkan dosis yang direncanakan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 1,5%, 3%, 6%.

### Pengujian Efek Ekstrak daun *Tectona grandis* L.f terhadap Fungsi Hati

Dilakukan berdasarkan metoda IFCC (International Federation of Clinical Chemistry).

#### 1. Pembuatan larutan SGPT

Monoreagen: larutan SGPT (Reagen 1 + Reagen 2) kurang lebih 4 : 1, dicampur dengan baik. Larutan tahan sampai 30 hari pada suhu 2° – 8°C dan 48 jam pada suhu kamar (18° – 30° C).

#### 2. Penetapan aktivitas SGPT

Penetapan aktivitas SGPT dilakukan pada hari ke-15, 30 dan 45 setelah pemberian sediaan uji. Serum dipipet sebanyak 100 µl (0,1 ml) dan masukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan larutan monoreagen sebanyak 1 ml campur dengan baik, setelah 1 menit diukur kenaikan serapan tiap menit selama tiga menit pada panjang gelombang 365 nm. Dihitung selisih rata-rata serapan tiap

menit (A/menit). Kemudian aktivitas SGPT dapat dihitung dengan rumus :

Aktivitas SGPT (U/L) = A/menit x F

$$A/menit = \frac{(Abs\ Test\ 2 - Abs\ Test\ 1) + (Abs\ Test\ 3 - Abs\ Test\ 2)}{2}$$

Keterangan :

A/menit = Perubahan aktivitas rata-rata per menit

F = Faktor (3235)

### Pengujian Efek Ekstrak daun *Tectona grandis* L.f terhadap Fungsi Ginjal

#### 1. Pengukuran urin 24 jam

Pengukuran volume urin dilakukan dengan cara memasukkan mencit ke dalam kandang metabolit yang dilengkapi dengan penampung urin. Penampungan urin selama 24 jam dilakukan pada hari ke 14, 29 dan 44 kemudian diukur volumenya menggunakan gelas ukur.

#### 2. Penimbangan berat badan

Berat badan mencit masing-masing ditimbang dengan menggunakan timbangan hewan.

#### 3. Pengukuran bersihan kreatinin

Untuk menentukan bersihan kreatinin dilakukan pengukuran kadar kreatinin urin dan serum yang dilakukan pada hari ke-15, ke- 30 dan ke- 45 setelah pemberian sediaan uji. Urin yang digunakan adalah urin 24 jam dan serum yang digunakan adalah serum dari darah yang diambil pada hari ke-15, ke- 30 dan ke- 45 untuk masing-masing kelompok dengan cara teknik orbital melalui vena konjungtiva, yaitu darah ditampung dalam tabung reaksi (yang berisi appendrof) lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Serum di pisahkan menggunakan pipet.

#### a. Pengukuran kreatinin urin

Pengukuran kadar kreatinin urin dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer Thermospectronic Genesis 20 dengan cara: Urin



diencerkan terlebih dahulu dengan aquadest (1 : 49) dalam labu ukur, pipet sebanyak 50 µL. Tambahkan NaOH (0,16 mol/L) 0,5 mL pada suhu konstan 20-30°C. Lima menit kemudian ditambahkan asam pikrat 0,25 mL lalu campur baik menggunakan vortex. Pengukuran absorban sampel dilakukan pada menit pertama hingga didapat As1. Pengukuran dilanjutkan 2 menit setelah ditentukan As1 hingga dapat As2. Absorban I dan II diukur pada panjang gelombang 492 nm.

Absorban larutan standar diukur dengan cara yang sama dan dipersiapkan dengan menggunakan 50 µl larutan standar kreatinin dengan konsentrasi 2 mg/ml ditambah NaOH 0,5 mL dan asam pikrat 0,25 mL.

Kadar kreatinin dalam urin ditentukan dengan rumus :

$$Ucr = \frac{As2 - As1}{Ast2 - Ast1} \times 50 \times 2 \text{ mg/dL}$$

b. Pengukuran kreatinin serum

Serum dipipet sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian campur dengan larutan NaOH (0,16 mol/L) 0,5 mL pada suhu 20-30°C. Lima menit kemudian ditambah asam pikrat 0,25 mL lalu campur baik menggunakan vortex. Pengukuran sampel dilakukan pada menit 1 hingga didapat As1. Pengukuran dilanjutkan 2 menit setelah dilakukan As1 hingga didapat As2. Absorban I dan II diukur pada panjang gelombang 492 nm.

Kadar kreatinin dalam serum ditentukan dengan rumus :

$$Scr = \frac{As2 - As1}{Ast2 - Ast1} \times 2 \text{ mg/dL}$$

Dari data yang diperoleh, dilakukan penentuan bersihan kreatinin dengan menggunakan rumus :

$$ClCr = \frac{Ucr \times Vu}{Scr \times t}$$

4. Penentuan persentase fungsi ginjal

Untuk menentukan persentase fungsi ginjal dengan menggunakan rumus :

$$RF = \frac{ClCr P}{ClCr K} \times 100 \%$$

**Penentuan Efek Ekstrak daun *Tectona grandis* L.f terhadap Berat Relatif Organ (ginjal dan hati) mencit**

Hewan yang dikorbankan pada hari ke- 15, ke- 30 dan ke- 45 setelah perlakuan dibedah pada bagian abdomen secara vertikal. Organ ginjal dan hati diambil lalu dibersihkan dengan kertas saring kemudian ditimbang. Selanjutnya ditentukan berat relatif organnya terhadap berat badan dengan menggunakan persamaan:

$$BRO = \frac{BO}{BB}$$

Dari hasil penelitian yang didapatkan dievaluasi dengan uji statistik analisa variasi (ANOVA) dua arah dan dilanjutkan dengan uji lanjut berganda Duncan (Jones, 2010)

**Evaluasi Data**

Data hasil penelitian akan di uji secara statistik menggunakan analisa variansi (Anova) dua arah.

**HASIL DAN DISKUSI**

Setelah dilakukan penelitian pengaruh ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f) terhadap fungsi hati dan fungsi ginjal pada mencit putih jantan diperoleh hasil sebagai berikut:

Dari hasil penilitian uji karakteristik didapatkan hasil sebagai berikut:

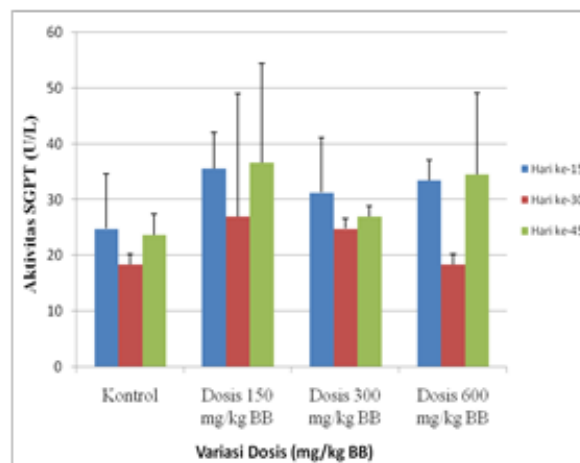
Tabel 1. Hasil uji karakteristik ekstrak daun jati

No	Pemeriksaan	Pengamatan
1	Organoleptis : <ul style="list-style-type: none"> <li>warna</li> <li>rasa</li> <li>bentuk</li> <li>bau</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>hijau kehitaman</li> <li>pahit</li> <li>ekstrak kental</li> <li>khas</li> </ul>
2	Susut pengeringan	6,24 %
3	Kadar abu total	19,08 %

Uji karakteristik ekstrak yang dilakukan disini adalah uji organoleptis, susut pengeringan dan kadar abu total dari ekstrak daun jati. Uji organoleptis adalah pengujian yang dilakukan yang didasarkan pada proses penginderaan seperti penglihatan, penciuman, perabaan dan perasa. Pada indera penglihatan salah satu contohnya yaitu penglihatan pada warna, warna pada daun jati adalah hijau kehitaman. Untuk penciuman yaitu memiliki bau yang khas, sedangkan untuk perabaan memiliki bentuk ekstrak kental dan perasa mempunyai rasa pahit.

Selain uji organoleptis, karakteristik ekstrak ini dicari perhitungan susut pengeringan dan kadar abu total. Susut pengeringan merupakan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai prosen. Tujuannya yaitu untuk memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa hilang pada proses pengeringan yang tergantung pada kemurnian dan kontaminasi. Prosentase yang diperoleh adalah 6,24 %. Kadar abu total merupakan bahan yang dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Tujuannya yaitu untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prosentase yang diperoleh adalah 19,08 %.

Dalam pengujian ekstrak daun jati terhadap fungsi hati yang diukur adalah aktivitas SGPT, dimana yang digunakan adalah serum mencit karena apabila digunakan plasma maka senyawa antikoagulan yang ditambahkan dapat mengganggu pemeriksaan. Hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Diagram batang pengaruh dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap aktivitas SGPT mencit putih jantan.

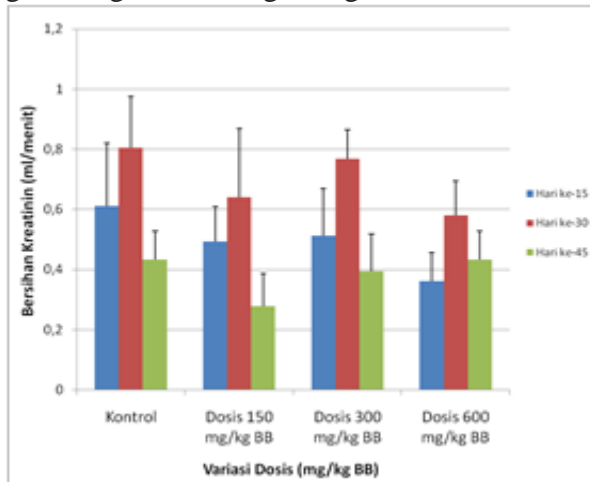
Dari gambar diatas didapatkan hasil aktivitas SGPT rata-rata kelompok mencit kontrol, kelompok mencit yang diberi ekstrak daun jati dengan dosis 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB berturut-turut adalah 22,286±6,146 U/L; 33,070±15,240 U/L; 27,678±5,856 U/L dan 28,757±10,904 U/L. Sedangkan aktivitas SGPT rata-rata pada hari ke-15, 30 dan 45 adalah 31,271±7,964 U/L; 22,107±10,306 U/L dan 30,465±11,415 U/L. Tidak memberikan efek yang nyata antara variabel dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap aktivitas SGPT mencit putih jantan ( $P>0,05$ ).

Pengujian ekstrak daun jati terhadap fungsi ginjal dapat diamati dari perhitungan bersihan kreatinin dan persentase fungsi ginjal. Bersihan kreatinin merupakan volume plasma yang dibersihkan dari kreatinin oleh ginjal persatuan waktu. Pengukuran bersihan kreatinin dihitung dengan cara mengukur



kadar kreatinin urin dan kreatinin serum yang dilakukan pada hari ke-15, 30 dan 45 dengan menggunakan spektrofotometer Thermospectronis Genesis 20 dan diukur pada panjang gelombang 429 nm (Newman & Price, 1999).

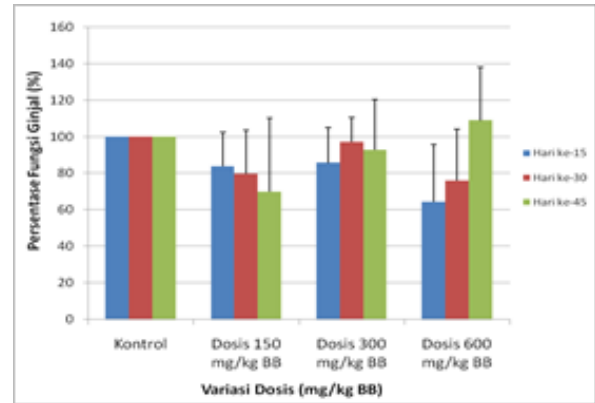
Hasil bersihan kreatinin dapat dilihat pada gambar grafik batang sebagai berikut :



Gambar 2. Diagram batang pengaruh dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap bersihan kreatinin mencit putih jantan

Dari gambar diatas, bersihan kreatinin rata-rata kelompok mencit kontrol, kelompok mencit yang diberi ekstrak daun jati dengan dosis 150 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB berturut-turut adalah  $0,617 \pm 0,216$  mL/menit;  $0,470 \pm 0,210$  mL/menit;  $0,559 \pm 0,199$  mL/menit,  $0,458 \pm 0,131$  mL/menit. Sedangkan kadar bersihan kreatinin rata-rata pada hari ke-15, 30 dan 45 adalah  $0,494 \pm 0,159$  mL/menit,  $0,699 \pm 0,167$  mL/menit dan  $0,385 \pm 0,112$  mL/menit.

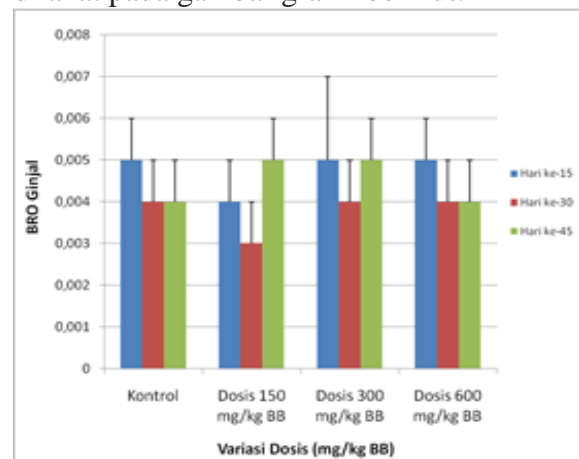
Setelah didapatkan hasil perhitungan bersihan kreatinin, bisa dihitung persentase fungsi ginjal, dimana persentase fungsi ginjal dapat ditentukan dengan membandingkan bersihan kreatinin kelompok dosis dengan kelompok kontrol. Hasil persentase fungsi ginjal adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Diagram batang pengaruh dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap persentase fungsi ginjal mencit putih jantan.

Dari gambar diatas, dari berbagai variasi dosis dan hari, dapat dilihat bahwa tidak terdapat pengaruh interaksi antara variabel dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap persentase fungsi ginjal mencit putih jantan ( $P > 0,05$ ). Dan masih dalam range normal yaitu 70-130% (Kaplan, 1979).

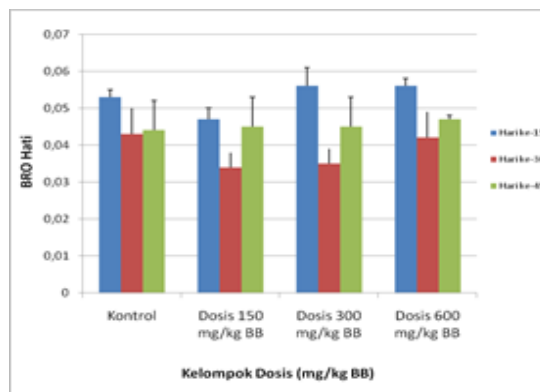
Pada pengujian efek ekstrak daun jati terhadap berat relatif organ, dapat dilihat pada organ ginjal dan hati. Berat relatif organ merupakan salah satu cara untuk melihat kerusakan dari organ ginjal dan hati setelah pemberian ekstrak, yaitu dapat diketahui dari pengamatan visual terhadap berat organ tersebut. Hasil yang didapat bisa dilihat pada gambar grafik berikut:



Gambar 4. Diagram batang dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap berat relatif organ ginjal mencit putih jantan.

Dari data diatas, hasil rasio berat organ ginjal kelompok mencit kontrol, kelompok mencit yang diberi ekstrak daun jati dengan dosis 150mg/kg BB, 300 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB berturut-turut adalah  $0,004 \pm 0,001$ ;  $0,004 \pm 0,001$ ;  $0,005 \pm 0,001$  dan  $0,004 \pm 0,001$ . Sedangkan rasio berat organ ginjal rata-rata pada hari ke-15, 30 dan 45 adalah  $0,005 \pm 0,001$ ;  $0,004 \pm 0,001$  dan  $0,005 \pm 0,001$ . Ternyata, pada rasio berat organ ginjal yang diberi variasi dosis memiliki rasio berat organ yang hampir sama dengan kelompok kontrol. Setelah dilanjutkan dengan uji anova dua arah, tidak ada pengaruh yang nyata akibat pemberian dosis, lama pemberian dan interaksi antar keduanya karena signifikansi  $>0,05$ .

Selain rasio berat organ ginjal, rasio berat organ hati juga dapat diamati. Hasil yang didapat adalah sebagai berikut:



Gambar 5. Diagram batang dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati terhadap berat relatif organ hati mencit putih jantan.

Sama dengan rasio berat organ ginjal, rasio berat organ hati tidak terjadi perubahan berat yang begitu nyata artinya hewan yang diberi variasi dosis memiliki rasio berat organ hati yang sama dengan kelompok kontrol (yang tidak diberi dosis). Setelah dilanjutkan uji anova dua arah didapatkan hasil rasio berat organ hati tidak dipengaruhi nyata oleh pemberian dosis dan lama pemberian, begitu pula interaksi antara dosis dan lama pemberian karena memiliki signifikansi  $>0,05$  sehingga pemberian ekstrak herba sawi langit tidak memiliki pengaruh ataupun efek toksik pada rasio berat organ hati.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan:

- 1) Pemberian variasi dosis dan lama pemberian ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f) tidak mempengaruhi fungsi hati pada mencit putih jantan ( $P > 0,005$ )

- 2) Pemberian variasi dosis ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f) tidak mempengaruhi fungsi ginjal pada mencit putih jantan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha, S., 2006, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 4, Jakarta: Puspa Swara.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*, Jakarta:

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia Dir Jen POM.
- Dirjen POM., 1996, *Kumpulan peraturan perundang-undangan bidang sediaan farmasi, makanan, alat kesehatan, dan bahan berbahaya (Umum)*, Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Hartati, S., 2005, *Detail penelitian obat bahan alam*, Skripsi, Bandung: Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung.
- Jamaludin., 2008, *Efek antidiare ekstrak etanol daun jati (Tectona grandis L.f) pada mencit putih jantan*, Tesis, Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Jones, D.S., 2010, *Statistika farmasi*. Penerjemah: H. Rivai, Jakarta: Penerbit EGC.
- Kaplan, A. and Szabo, L.L., 1979, *Clinical Chemistry, Interpretation and Techniques*, London : Henry kimpton publishers.
- Newman, D.J., Price, C.P, 1999, *Renal Function and Nitrogen Metabolites, Tietz textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>nd</sup> ed, Philadelphia: Saunder Company.
- Swandari, S., 2004, *Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun jati*, Skripsi, Bandung: Dept. Farmasi Institut Teknologi Bandung.
- Thomson, E., 1985, *Drug and bioscreening fundamentals of drugs evaluation technique in pharmacology*, New York: Graceway Publishing Company.
- Tjitrosoepomo, G., 1994, *Taksonomi tumbuhan*, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

## UJI EFEK SITOTOKSIK HASIL FRAKSINASI EKSTRAK ETANOL AKAR ASAM KANDIS (*Garcinia cowa* Roxb.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN METODA MTT

Fajar Yonny Ilhami, Fatma Sri Wahyuni, Elidahanum Husni  
Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.

### ABSTRAK

Uji efek sitotoksik hasil fraksinasi ekstrak etanol akar asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) telah dilakukan terhadap sel kanker payudara T47D secara *in vitro*. Potensi hasil fraksinasi ekstrak etanol akar asam kandis ini diuji dengan metode MTT. Prinsip kerja metoda MTT adalah dengan mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi MTT menjadi formazan. Pengujian ekstrak fraksinasi dilakukan dari konsentrasi 0.1, 1, 10, dan 100 µg/mL. Dari pengujian yang dilakukan diperoleh nilai IC<sub>50</sub> ekstrak fraksi etil asetat akar asam kandis terhadap sel kanker payudara T47D sebesar  $0,52 \pm 3,55$  µg/mL dan fraksi air sebesar  $81,44 \pm 7,99$  µg/mL. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa fraksi etil asetat akar asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D secara signifikan pada konsentrasi 100 µg/mL ( $p=0,004$ ).

**Kata kunci:** Kanker payudara, Akar Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.), MTT.

### PENDAHULUAN

Kanker pada dasarnya adalah suatu penyakit yang ditandai dengan suatu pergeseran pada mekanisme kontrol sel yang mengatur proliferasi dan diferensiasi sehingga mengakibatkan pertumbuhan sel menjadi abnormal (Katzung, 1997). Kanker merupakan masalah kesehatan dari banyak negara di dunia dan termasuk penyakit yang menjadi perhatian serius pada bidang kedokteran. Hal ini disebabkan oleh jumlah pasien yang terus meningkat dari tahun ke tahun dan belum ditemukan cara yang efektif untuk pengobatannya (Sajuthi, 2001). Di Indonesia, kanker payudara menempati urutan kedua setelah kanker leher rahim (Tjindarbumi dan Mangunkusumo, 2002). Kanker payudara menempati urutan pertama penyakit keganasan pada pasien rawat inap wanita di rumah sakit (DKRI, 2009).

Pengobatan kanker payudara dengan cara kemoterapi merupakan terapi pilihan, akan tetapi pengobatan kanker menggunakan agen kemoterapi cenderung menimbulkan resistensi sel kanker yang mengakibatkan sebagian besar kegagalan pengobatan kanker

(Staerk *et al.*, 2002). Disamping itu, obat antikanker yang ideal seharusnya dapat membunuh sel kanker tanpa membahayakan jaringan sehat. Namun sampai sekarang belum ditemukan obat yang memenuhi kriteria demikian. Obat antikanker yang telah digunakan umumnya bersifat tidak selektif, karena selain memiliki khasiat sebagai antikanker obat tersebut juga bersifat merusak sel-sel yang normal (Anonim, 2003). Obat antikanker yang ideal seharusnya dapat mematikan sel kanker tanpa membahayakan jaringan sehat. Namun, sampai sekarang belum ditemukan obat yang memenuhi kriteria demikian. Karenanya, usaha penelitian terus dilakukan untuk menemukan obat kanker yang ideal. Salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial yaitu tumbuh-tumbuhan sehingga sampai saat ini pencarian obat-obatan kemoterapi dari tumbuh-tumbuhan terus dilakukan (Sukardiman, Ekasari, Hapsari, 2006).

Tumbuhan dari genus Guttiferae (*Garcinia*) akhir-akhir ini banyak diteliti

kandungan dan aktivitasnya. Genus ini dilaporkan mengandung santon, benzofenon, triterpen, biflavonoid, benzoquinon, senyawa  $\alpha$ -mangostin, cowanin, cowanol, cowasanton, rubrasanton,  $\beta$ -mangostin, tetrapreniltolouquinon, dan santon terpenilasi (Rukachaisirikul *et.al.*, 2008; Wahyuni *et.al.*, 2004; Kenji *et.al.*, 2003; Peres *et.al.*, 2000; Sadaquat *et.al.*, 2000). Senyawa santon terutama dikenal dengan potensinya sebagai antikanker (Jabit *et.al.*, 2009). Salah satu tanaman di genus ini yang mulai banyak diteliti yaitu *Garcinia cowa* Roxb. yang dikenal dengan nama daerah asam kandis atau kandis.

Penelitian kali ini menggunakan fraksinasi ekstrak etanol akar asam kandis. Hasil penelitian terdahulu oleh Lenggo (2009) tentang uji efek sitotoksik dari

ekstrak etanol akar asam kandis telah mendapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 6.06  $\mu$ g/ml.

Pengujian aktivitas sitotoksik fraksi dari ekstrak etanol akar asam kandis ini, dilakukan secara *invitro* dengan metoda Microtetrazolium (MTT) terhadap sel kanker payudara T47D yang didasari pada perubahan larutan reagen MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) yang berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna ungu (Mosmann, 1983). Hasil yang diamati pada uji ini adalah perubahan warna yang dihasilkan akibat terbentuknya kristal formazan. Penelitian ini diharapkan memberikan hasil yang dapat membuktikan dan melihat dari aktivitas sitotoksin masing-masing fraksi dan hal ini dapat menunjukkan akar asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) mampudijadikan sebagai antikanker.

## METODA PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi adalah erlenmeyer berbagai ukuran, gelas ukur, corong, spatel, botol coklat, vial, kertas saring, *rotary evaporator*, dan alat destilasi.

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas sitotoksik berupa sarung tangan karet, botol semprot, labu Erlenmeyer, gelas piala, *flask* T-25 (Iwaki<sup>®</sup>), botol Duran, tabung *Appendorf* (Iwaki<sup>®</sup>), pipet mikro (Ecopipette<sup>®</sup>), hemasitometer, timbangan analitik, autoklaf (Hirayama<sup>®</sup>), lemari es (Nasional<sup>®</sup>), inkubator 37°C/5% CO<sub>2</sub> (Thermo Scientific<sup>®</sup>), *microbiological safety cabinet air flow* kelas II (Thermo Scientific<sup>®</sup>), vortex (Etech<sup>®</sup>), penangas air (Memert<sup>®</sup>), sentrifus (Thermo Scientific<sup>®</sup>), tabung sentrifugal, mikroskop *inverted* (Zeiss<sup>®</sup>), plat 96 sumuran, dan spektrofotometer *microplate* (xMark<sup>TM</sup>).

### Bahan

Bahan yang digunakan untuk fraksinasi berupa ekstrak etanol akar asam kandis, heksan, etil asetat, dan aquadest. Sel kanker payudara manusia T47D, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 70%, air

ultrapurifikasi, medium *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640, *Fetal Bovine Serum* (FBS), Penicillin-Streptomycin, Trypsin-EDTA, *Phosphate buffer Saline* (PBS), dan reagen 3-(4,5-dimetilthiazol- 2- il)-2,5- difeniltetrazolium bromida (reagen MTT).

### Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis.

Ekstrak etanol akar asam kandis difraksinasi dengan heksan dan air dalam corong pisah, dikocok secukupnya. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan heksan dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi heksan. Hasil fraksi heksan diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental dari fraksi tersebut. Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat dilakukan beberapa kali pengulangan seperti perlakuan diatas sehingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Hasil fraksi etil asetat diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian fraksi

air di uapkan dengan *rotary evaporator* sehingga di dapatkan ekstrak kental.

### **Kultur Sel**

#### **a. Persiapan Alat**

Alat-alat yang digunakan untuk pengujian harus dalam keadaan bersih dan steril. Wadah plastik dipersiapkan hanya untuk satu kali pemakaian, dan sterilitasnya terjamin selama kemasan tidak rusak. Untuk alat-alat berbahan gelas, wadah dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Sedangkan *microbiological safety cabinet air flow* kelas II disterilkan dengan cara disemprot dengan etanol 70% dan disinari lampu UV.

#### **b. Penyiapan Sel**

Sel kanker payudara yang digunakan yaitu sel T47D yang dikoleksi dari Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari freezer (-80°C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *flask* yang telah berisi 10 ml media, diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub>, kemudian diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *flask*. Medium pertumbuhan diganti sekali dalam dua hari dan bila jumlah sel di dalam *flask* mencapai 70-85%, lakukan sub-kultur sel.

#### **c. Penghitungan Sel kanker**

Medium dibuang kemudian ditambahkan 2 ml trypsin-EDTA ke dalam *flask* yang berisi kultur sel, kemudian inkubasi 10 menit. Setelah sel memisah, ditambahkan 3 ml medium RPMI. Ambil 10 µl suspensi sel, letakkan pada masing-masing kotak penghitungan sel hemasitometer. Lakukan penghitungan di bawah mikroskop. Tentukan rata-rata jumlah sel aktif yang ada untuk dapat membuat suspensi 2000 sel dalam setiap sumur pada plat 96 sumuran.

#### **d. Penambahan Sel**

Dibuat suspensi sel dalam medium (jumlah dan volume terukur), campur sempurna. Masukkan sebanyak 180 µl suspensi ke dalam masing-masing sumur kecuali sumur pada kolom pertama dan terakhir. Kolom pertama dan terakhir merupakan blanko yang hanya diisi medium, sedangkan kolom kedua merupakan kontrol yang diisi suspensi sel dalam medium. Inkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

### **Pembuatan Larutan Uji**

#### **a. Larutan Stok**

Ditimbang ekstrak sebanyak 100 mg. Larutkan ekstrak dalam 1 ml pelarut yang sesuai untuk mendapatkan konsentrasi larutan 100 mg/ml. Ekstrak harus dapat larut sempurna dalam pelarut yang digunakan.

#### **b. Pengenceran Larutan Uji**

Ke dalam 5 buah tabung *appendorf* dipipet 90 µl medium. Kemudian dibuat larutan induk dengan konsentrasi 10 mg/ml dengan cara memipet 10 µl larutan stok kemudian dipindahkan ke dalam tabung pertama, aduk sempurna. Lakukan pengenceran bertingkat dengan cara memindahkan 10 µl larutan uji dari tabung pertama ke tabung kedua. Lakukan hal yang sama untuk tabung selanjutnya sehingga akan diperoleh larutan dengan konsentrasi 100, 10, 1 dan 0,1 µg/ml pada masing-masing sumur pada plat 96 sumuran.

### **Uji Sitotoksik masing-masing fraksi (Uji MTT)**

#### **a. Peletakan Larutan Uji**

Plat uji yang berisi sel dan telah diinkubasi selama 24 jam. Setiap bagian dirancang untuk empat kali replikasi. Peletakan larutan uji dimulai dari konsentrasi paling rendah. Pindahkan 20 µl larutan uji ke dalam masing-masing sumur uji. Ke dalam sumur kontrol masukkan 20 µl media, dan blanko hanya diisi dengan 200 µl media. Plat kembali diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator 37°C/ 5% CO<sub>2</sub>. Amati perubahan yang terjadi pada sel selama masa inkubasi.

**b. Peletakan Larutan MTT**

Larutan MTT 5 mg/ml dipipet 50 µl ke dalam masing-masing sumur. Kemudian inkubasi selama 3-4 jam pada 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Setelah 3-4 jam, akan terlihat adanya endapan ungu kristal formazan. Medium yang mengandung reagen MTT dibuang dengan cara dihisap dari setiap sumur, sehingga yang tertinggal hanya endapan ungu kristal formazan. Larutkan endapan

pada setiap sumur dengan 100 µl DMSO. Ukur serapannya dengan spektrofotometer *microplate* pada λ 550 nm.

**Analisis Data**

Dengan menggunakan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat ditentukan persentase sel yang terhambat dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{Rata-rata absorbansi sel uji} - \text{Rata-rata absorbansi blanko}}{\text{Rata-rata absorbansi kontrol} - \text{Rata-rata absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Hubungan antara log konsentrasi larutan uji dengan viabilitas sel dapat ditampilkan dalam bentuk grafik. Dari grafik tersebut dapat ditentukan harga IC<sub>50</sub> dengan persamaan regresi linier dengan syarat *r* lebih besar dari *r* tabel, kemudian masukan *y* = 50% pada persamaan regresi linier (*Y* = *AX* + *B*) dan cari *x* nya kemudian dihitung, antilog dari konsentrasi tersebut sehingga

diperoleh IC<sub>50</sub> (konsentrasi yang dapat menghambat 50% pertumbuhan sel) larutan uji (CCRC, 2009).

Selanjutnya, data hubungan antara konsentrasi sediaan uji dengan absorbansi dianalisis secara statistik menggunakan analisa varian (ANOVA) satu arah yang dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*).

**HASIL DAN DISKUSI****Hasil**

Dari 40,5 g sampel ekstrak kental etanol akar asam kandis, kemudian difraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya sehingga didapatkan 2 fraksi yang seharusnya 3 fraksi

didapatkan dengan jumlahnya yaitu fraksi heksan 0 gram, fraksi etil asetat 0,98 gram dan fraksi air 4,14 gram.

Hasil perhitungan terhadap nilai % viabilitas pada fraksi etil asetat dan fraksi air :

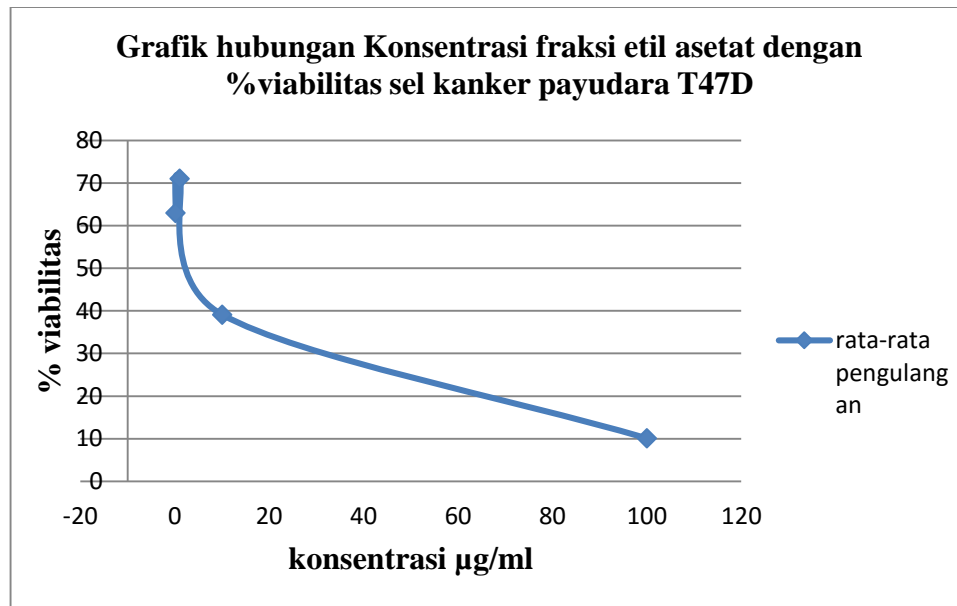
Tabel 1. Persen Viabilitas Sel yang Diuji dengan Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi	% Viabilitas Sel		
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3
100	2,09	4,36	23,88
10	16,93	53,60	46,90
1	61,42	67,18	84,56
0,1	57,35	78,76	52,79

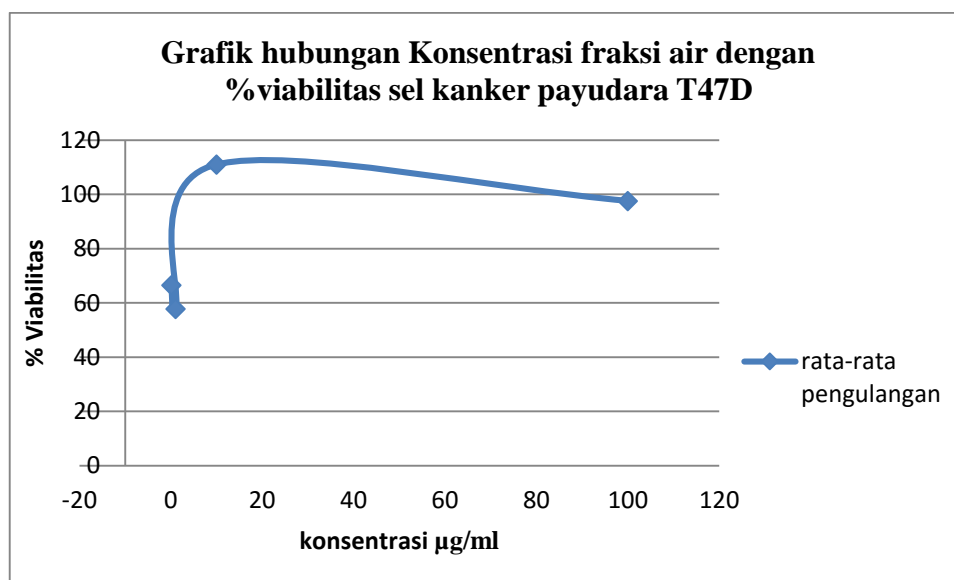
Tabel 2. Persen Viabilitas Sel yang Diuji dengan Fraksi Air

Konsentrasi	% Viabilitas Sel		
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3
100	118,13	84,21	90,43
10	117,70	99,64	115,65
1	58,61	56,97	57,75
0,1	76,78	46,69	76,14

IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration*) rata-rata dari 3 pengulangan pada fraksi etil asetat adalah: 0,52 µg/ml dan pada fraksi air adalah : 81,14 µg/ml.



Gambar 1. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan % viabilitas fraksi etil asetat akar asam kandis terhadap sel kanker payudara T47D. Konsentrasi hambat (IC<sub>50</sub>) didapat dari grafik dengan persamaan regresi log konsentrasi vs % viabilitas sel. Data ditampilkan dalam rata-rata ± SD (n=3).



Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi dengan % viabilitas fraksi air akar asam kandis terhadap sel kanker payudara T47D. Konsentrasi hambat (IC<sub>50</sub>) didapat dari grafik dengan persamaan regresi log konsentrasi vs % viabilitas sel. Data ditampilkan dalam rata-rata ± SD (n=3).



## Pembahasan

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan yaitu ekstrak etanol akar asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) yang telah tersedia di Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang dengan jumlah sebanyak 40,5 gram. Sebelumnya telah dilakukan penelitian mengenai uji sitotoksik dari ekstrak etanol akar asam kandis dengan nilai  $IC_{50}$  6,06  $\mu\text{g/ml}$  (Lenggo, 2013). Dari pemeriksaan metabolit yang telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, diketahui bahwa akar asam kandis mengandung senyawa fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik dari hasil fraksinasi ekstrak etanol akar asam kandis secara *in-vitro*. Keuntungan dari pengujian secara *in-vitro* ini adalah senyawa yang digunakan untuk pengujian ini relatif sedikit, kemudian waktu yang diperlukan lebih singkat dan dapat memberikan informasi mengenai efeknya secara langsung terhadap sel manusia yang telah di kultur. Uji *in-vitro* ini dilakukan terhadap sel kanker payudara manusia dan sel kanker payudara yang digunakan pada penelitian ini yaitu sel T47D.

Dari hasil uji MTT diketahui bahwa fraksi etil asetat akar asam kandis memiliki nilai  $IC_{50}$  0,52  $\mu\text{g/ml}$  sedangkan fraksi air akar asam kandis juga memiliki nilai  $IC_{50}$  81,14  $\mu\text{g/ml}$ . Nilai  $IC_{50}$  (konsentrasi yang dapat menghambat 50% pertumbuhan sel) didapatkan dengan menghitung persamaan regresi linear ( $Y=A+Bx$ ) dari grafik antara log konsentrasi vs % viabilitas sel dimana syarat  $r$  lebih besar dari  $r$  tabel dan nilai  $r^2$  dikatakan linear jika mendekati 1, kemudian masukan  $y = 50\%$  pada persamaan regresi linier dan cari  $x$  nya kemudian dihitung, antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh  $IC_{50}$  (CCRC, 2009).

Menurut *The American National Cancer Institute*, suatu ekstrak dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai  $IC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$  (Lee & Houghton, 2005). Dengan demikian fraksi etil asetat akar asam kandis dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D. Nilai 0,52 merupakan angka hasil rata-rata dari tiga kali pengulangan pengerjaan pada masing-masing uji sitotoksik dengan menggunakan fraksi etil asetat akar asam kandis. Sedangkan pada fraksi air didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 81,14.

## KESIMPULAN

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian, dapat diambil kesimpulan bahwa fraksi etil asetat memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  0.52  $\mu\text{g/ml}$ , sedangkan fraksi air tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  81.14  $\mu\text{g/ml}$ . Berdasarkan data hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa fraksi etil asetat akar asam kandis berpotensi

untuk dikembangkan sebagai sumber baru dalam mengembangkan obat kanker.

### Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar dapat melakukan isolasi terhadap fraksi etil asetat akar asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) untuk menyelidiki senyawa aktif antikanker yang murni pada fraksi tersebut yang bersifat sitotoksik dan juga untuk melakukan perubahan dalam variasi waktu inkubasi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. CCRC. (2009). Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
2. Departemen Kesehatan. (2009). Profil Kesehatan Indonesia 2008. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
3. Jabit, Md. Lip, Wahyuni, F.S, Rozida, K., Ahmad, I.D., Khozirah, S., Lajis Nordin H, & Johnson, S. (2009). Cytotoxic and nitric oxide inhibitory activities of methanol extracts of *Garcinia* species. *Pharmaceutical Biology*. 47(11): 1019–1026
4. Lee, C.C & Houghton, P. (2005). Cytotoxicity of plants from Malaysia and Thailand used traditionally to treat cancer. *J Ethnopharmacol*, 2005; 100: 237-243.
5. Lenggo, S.(2013). *Uji Efek Sitotoksik Fraksinasi Ektrak Etanol Akar Asam Kandis (Garcinia cowa Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metoda MTT*. (Skripsi). Padang. F.Farmasi, UNAND.
6. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Method*, 16;65(1-2), 55-63.
7. Tjindarbumi, D dan Mangunkusumo, R. (2002). *Cancer in Indonesia: Present and Future*. Jpn. J. Clin. Oncol. 32, S17-S21.
8. Wahyuni, F.S., Byrne, L.T., Dachriyanus, Dianita, R., Jubahar, J., Lajis, N.H., & Sargent, M.V., (2004). A New Ring-Reduced Tetraprenyltoluquinone and a prenylated xanthone from *Garcinia cowa*. *Aust. J. Chem.* 57: 223-226

## **KAJIAN EFEK SITOTOKSIK HASIL FRAKSINASI EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH ASAM KANDIS (*Garcinia cowa* Roxb.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN METODA MICROTETRAZOLIUM (MTT)**

**Fatma Sri Wahyuni, Edgar Firnando, Elidahanum Husni**

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

### **ABSTRAK**

Telah dilakukan kajian efek sitotoksik hasil fraksinasi ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D secara *in vitro*, dengan metode MTT. Prinsip kerja metoda MTT adalah kolorimetri dengan mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi MTT menjadi formazan. Pengujian fraksinasi heksan, etil asetat dan air dilakukan dari konsentrasi 0,1 µg/ml, 1 µg/ml, 10 µg/ml, dan 100 µg/ml. Dari hasil pengujian, diperoleh nilai IC<sub>50</sub> fraksi heksan, etil asetat dan air kulit buah asam kandis terhadap sel kanker payudara T47D berturut-turut sebesar 3,53 µg/ml, 0,59 µg/ml, dan 3457,39 µg/ml. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa fraksi heksan dan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D secara signifikan pada konsentrasi 10 µg/ml dan 100 µg/ml.

**Kata kunci:** *Garcinia cowa* Roxb., sel kanker payudara T47D, Metode Microtetrazolium (MTT)

### **PENDAHULUAN**

Kanker merupakan penyebab utama kematian diseluruh dunia. Dari 58 juta kematian di seluruh dunia dalam tahun 2005, tercatat 7.6 juta (13%) diantaranya disebabkan oleh kanker (Moeljopawiro, 2007). Jenis penyakit kanker yang paling umum dijumpai adalah kanker payudara. Kanker payudara merupakan penyebab utama kematian pada wanita di berbagai belahan dunia (Departemen Kesehatan, 2008).

Pengobatan kanker secara medis memerlukan biaya yang sangat tinggi. Selain melalui bedah dan radiasi, pengobatan kanker mengandalkan kemoterapi. Kemoterapi menggunakan obat-obat anti kanker masih banyak terkendala masalah, diantaranya masih belum efektifnya obat dalam membunuh sel kanker dan efek samping yang harus diderita oleh pasien. Selain pengobatan konvensional tersebut, masyarakat juga banyak mencoba kemungkinan penyembuhan dengan pengobatan alternatif menggunakan ramuan

bahan alami (*natural medicine*) (Djajanegara & Wahyudi, 2010).

Tumbuhan dari genus Guttiferae (*Garcinia*) akhir-akhir ini banyak diteliti kandungan dan aktivitasnya. Genus ini dilaporkan mengandung santon, benzofenon, triterpen, biflavonoid, benzoquinon, senyawa  $\alpha$ -mangostin, cowanin, cowanol, cowasanton, rubrasanton,  $\beta$ -mangostin, tetrapreniltolouquinon, dan santon terprenilasi (Rukachaisirikul *et al.*, 2008; Wahyuni *et al.*, 2004; Kenji *et al.*, 2003; Peres *et al.*, 2000; Sadaquat *et al.*, 2000). Senyawa santon terutama dikenal dengan potensinya sebagai antikanker (Jabit *et al.*, 2009). Salah satu tanaman di genus ini yang mulai banyak diteliti yaitu *Garcinia cowa* Roxb. yang dikenal dengan nama daerah asam kandis atau kandis.

Antikanker dapat dilakukan dengan uji MTT *assay* yang merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode ini merupakan metode kolorimetrik, dimana terjadinya reduksi garam kuning

tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen* DMSO akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Mosman, 1983).

Dari penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan  $IC_{50}$  19,33  $\mu$ g/ml (Sutma, 2012). Berdasarkan data hasil

penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol kulit buah asam kandis berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber baru dalam mengembangkan obat kanker. Namun, masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan fraksinasi terhadap ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) untuk mengetahui aktivitas sitotoksik masing-masing fraksi.

Dalam penelitian ini, dilakukan pengujian sitotoksik terhadap fraksinasi ekstrak etanol kulit buah asam kandis terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metoda MTT Assay. Parameter yang diukur yaitu nilai  $IC_{50}$ . Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sitotoksik fraksinasi ekstrak etanol kulit buah asam kandis terhadap sel kanker payudara T47D.

## METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan untuk fraksinasi berupa erlenmeyer berbagai ukuran, gelas

Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas sitotoksik berupa sarung tangan karet, botol semprot, labu Erlenmeyer, gelas piala, *flask* T-25 (Iwaki<sup>®</sup>), botol Duran, tabung *Appendorf* (Iwaki<sup>®</sup>), pipet mikro (Ecopipette<sup>®</sup>), hemasitometer, timbangan analitik, autoklaf (Hirayama<sup>®</sup>), lemari es (Nasional<sup>®</sup>), inkubator 37°C/5% CO<sub>2</sub> (Thermo Scientific<sup>®</sup>), *microbiological safety cabinet air flow* kelas II (Thermo Scientific<sup>®</sup>), vortex (Etech<sup>®</sup>), penangas air (Memert<sup>®</sup>), sentrifus (Thermo Scientific<sup>®</sup>), tabung sentrifugal, mikroskop *inverted* (Zeiss<sup>®</sup>), plat 96 sumuran, dan spektrofotometer *microplate* (xMark<sup>TM</sup>).

### Fraksinasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis

Ekstrak etanol kulit buah asam kandis difraksinasi dengan heksan dan air dalam corong pisah, dikocok secukupnya. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan heksan dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai

ukur, corong, spatel, pipet tetes, botol coklat, vial, corong pisah, *rotary evaporator*.

Bahan yang digunakan untuk fraksinasi berupa ekstrak etanol kulit buah asam kandis, heksan, etil asetat, dan aquadest.

Bahan yang digunakan untuk uji efek sitotoksik yaitu sel kanker payudara manusia T47D, dimetil sulfoksida (DMSO), etanol 70%, air ultrapurifikasi, medium *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>), *Fetal Bovine Serum* (FBS) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>), Penicillin-Streptomycin, Trypsin-EDTA, *Phosphate buffer Saline* (PBS) (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>), dan reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (reagen MTT).

lapisan heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi heksan. Hasil fraksi heksan diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental dari fraksi tersebut. Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat dilakukan beberapa kali pengulangan seperti perlakuan diatas sehingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Hasil fraksi etil asetat diuapkan dengan *rotary*

*evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian fraksi air sisa di uapkan dengan *rotary evaporator* sehingga di dapatkan ekstrak kental.

## Kultur Sel

### a) Persiapan Alat

Alat-alat yang digunakan untuk pengujian harus dalam keadaan bersih dan steril. Wadah plastik dipersiapkan hanya untuk satu kali pemakaian, dan sterilitasnya terjamin selama kemasan tidak rusak. Untuk alat-alat berbahan gelas, wadah dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Sedangkan *laminar air flow* disterilkan dengan cara disemprot dengan etanol 70% dan juga dilengkapi dengan lampu UV.

### b) Penyiapan Sel

Sel kanker payudara yang digunakan yaitu sel T47D yang merupakan koleksi ***Cancer Chemoprevention Research Center*** (CCRC) dari Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari freezer (-80 °C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *flask* yang telah berisi 10 ml media, diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub>, kemudian diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *flask* dan membentuk lapisan monolayer. Medium pertumbuhan diganti sekali dalam dua hari dan bila jumlah sel di dalam *flask* mencapai 70-85%, lakukan sub-kultur sel.

### c) Sub Kultur Sel

Medium yang ada di dalam *flask* dibuang, kemudian tambahkan 2 ml trypsin-EDTA lalu aduk perlahan, inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, setelah itu amati sel di bawah mikroskop. Kemudian larutan trypsin-EDTA yang berisi sel disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Buang supernatan, lalu pelet disuspensikan dalam 3 ml medium. Masukkan ke dalam *flask* baru, aduk perlahan. Inkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

### d) Penghitungan Sel

Tambahkan 2 ml trypsin-EDTA ke dalam *flask* yang berisi kultur sel, kemudian inkubasi 5-10 menit. Kemudian larutan trypsin-EDTA yang berisi sel disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Buang supernatan, lalu pelet disuspensikan dalam 3 ml medium RPMI. Ambil 10 µl suspensi sel, letakkan pada masing-masing kotak penghitungan sel hemasitometer. Lakukan penghitungan di bawah mikroskop. Tentukan rata-rata jumlah sel aktif yang ada untuk dapat membuat suspensi 2000 sel dalam setiap sumur pada plat 96 sumuran.

### e) Peletakan Sel

Dibuat suspensi sel dalam medium (jumlah dan volume terukur), campur sempurna. Masukkan sebanyak 180 µl suspensi ke dalam masing-masing sumur kecuali sumur pada kolom pertama dan terakhir. Kolom pertama dan terakhir merupakan blanko yang hanya berisi medium 200 µl, sedangkan kolom kedua merupakan kontrol yang berisi suspensi sel 200 µl. Inkubasi pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

## Pembuatan Larutan Uji

### a) Larutan Stok

Ekstrak ditimbang sebanyak 100 mg. Ekstrak dilarutkan dalam 1 ml DMSO untuk mendapatkan konsentrasi larutan 100 mg/ml.

### b) Pengenceran Larutan Uji

Medium dipipet 90 µl ke dalam 5 buah mikrotube. Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 10 mg/ml dengan cara memipet 10 µl larutan stok kemudian dipindahkan ke dalam tabung pertama, aduk sempurna. Pengenceran dilakukan bertingkat dengan cara memindahkan 10 µl larutan uji dari tabung pertama ke tabung kedua. Lakukan hal yang sama untuk tabung selanjutnya sehingga akan diperoleh larutan dengan konsentrasi 100, 10, 1 dan 0,1 µg/ml pada masing-masing sumur pada plat 96 sumuran.

**Uji Proliferasi Sel (Uji MTT)****a) Peletakan Larutan Uji**

Plat uji yang telah berisi sel dan telah diinkubasi selama 24 jam, dibagi menjadi 3 bagian. Setiap bagian dirancang untuk empat kali replikasi. Peletakan larutan uji dimulai dari konsentrasi paling rendah. Pindahkan 20 µl larutan uji ke dalam masing-masing sumur kecuali sumur kontrol dan sumur blanko. Plat kembali diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator 37°C/ 5% CO<sub>2</sub>. Amati perubahan yang terjadi pada sel selama masa inkubasi.

**b) Peletakan Larutan MTT**

Larutan MTT 5 mg/ml dipipet 20 µl ke dalam masing-masing sumur. Inkubasi selama 3-4 jam pada 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Setelah 3-4 jam, akan terlihat adanya endapan ungu kristal formazan. Medium yang mengandung reagen MTT dibuang dengan cara dihisap dari setiap sumur, sehingga yang tertinggal hanya endapan ungu kristal formazan. Larutkan endapan pada setiap sumur dengan 100 µl DMSO. Ukur serapannya dengan spektrofotometer *micropplate* pada λ 550 nm.

**Analisis Data**

Dengan menggunakan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat

ditentukan persentase sel yang terhambat dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

**Rumus % viabilitas sel**

$$\frac{\text{Absorbansi sel uji} - \text{Absorbansi blanko}}{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Dari % viabilitas sel ini, lalu dilakukan perhitungan IC<sub>50</sub>. IC<sub>50</sub> merupakan gambaran efek sitotoksik yang diberikan oleh fraksi, yaitu kadar yang dapat menghambat proliferasi sel sebesar 50%.

Hubungan antara log konsentrasi larutan uji dengan viabilitas sel dapat ditampilkan dalam bentuk grafik. Dari grafik tersebut dapat ditentukan harga IC<sub>50</sub> dengan persamaan regresi linier dengan syarat r lebih besar dari r tabel, kemudian masukan y = 50 pada persamaan regresi linier dan cari x nya kemudian dihitung, antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh IC<sub>50</sub> (konsentrasi yang dapat menghambat 50 pertumbuhan sel) larutan uji (CCRC, 2009).

Selanjutnya, data hubungan antara konsentrasi sediaan uji dengan absorbansi dianalisis secara statistik menggunakan analisa varian (ANOVA) satu arah yang dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*).

**HASIL DAN DISKUSI**

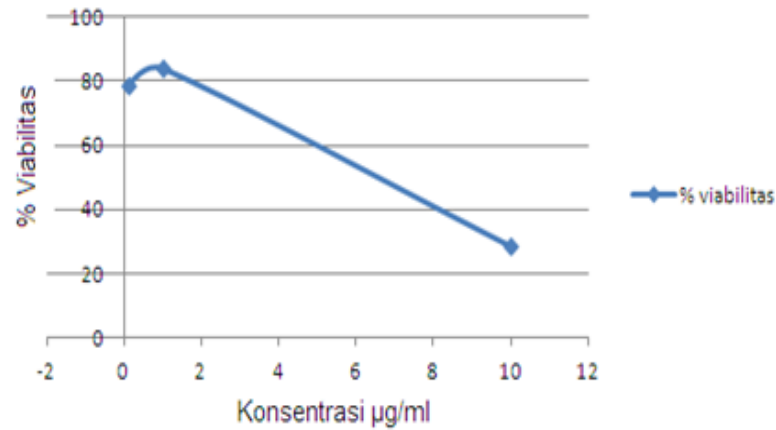
Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

**a) Hasil Uji Proliferasi Sel (Uji MTT)**

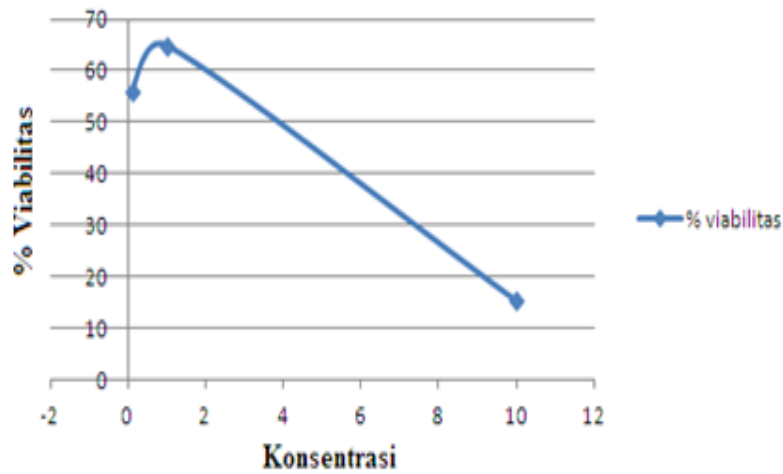
Berdasarkan uji MTT yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC<sub>50</sub> Fraksi Terhadap Sel Kanker Payudara T47D

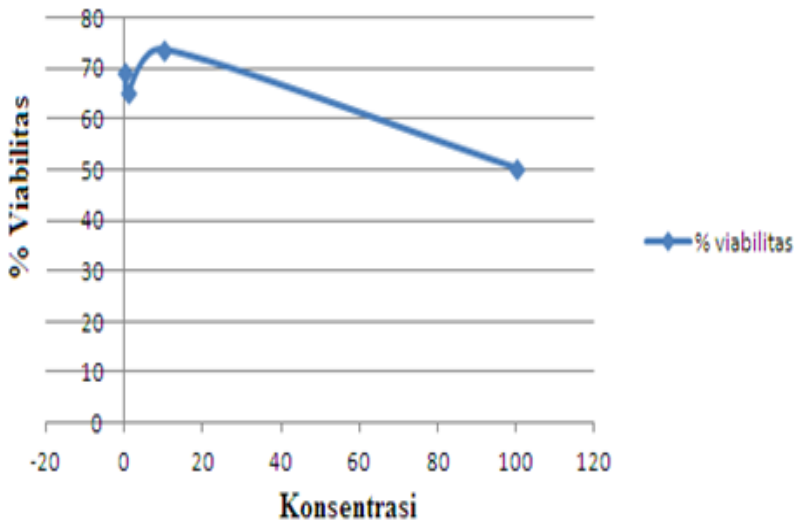
Sampel	Nilai IC <sub>50</sub>
Fraksi Heksan	3,53 µg/ml
Fraksi Etil Asetat	0,59 µg/ml
Fraksi Air	3457,39 µg/ml



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi Fraksi Heksan Vs % Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D



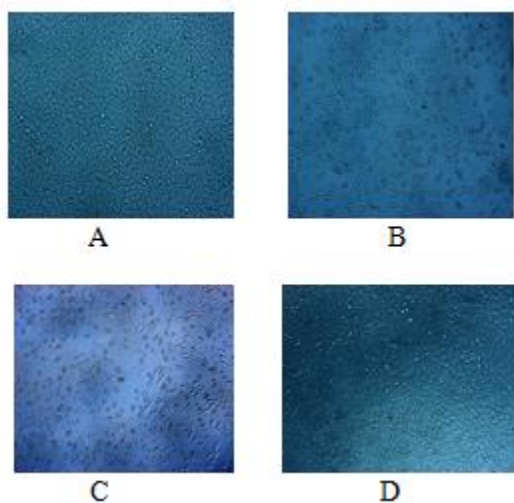
Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi Fraksi Etil Vs % Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D



Gambar 3. Grafik Hubungan Konsentrasi Fraksi Etil Vs % Viabilitas Sel Kanker Payudara T47D

Nilai  $IC_{50}$  didapatkan dari grafik antara log konsentrasi larutan uji vs % viabilitas sel dengan persamaan regresi linier dengan syarat  $r$  lebih besar dari  $r$  tabel, kemudian masukan  $y = 50$  pada persamaan regresi linier dan cari  $x$  nya kemudian dihitung, antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh  $IC_{50}$ .

Menurut *The American National Cancer Institute*, suatu ekstrak dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai  $IC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$  (Lee & Houghton, 2005). Perlakuan dengan fraksi heksan dan etil asetat juga memberikan pengaruh terhadap morfologi sel. Sel yang hidup tampak masih banyak dan berbentuk seperti daun (Gambar 4 A), sedangkan sel yang sudah mengalami kematian tampak berbentuk bulat dan mengapung (Gambar 4 B,C). Sementara fraksi air (D) masih menyerupai control, baik dari segi bentuk sel dan jumlahnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi heksan dan etil asetat dapat menginduksi terjadinya kematian sel pada sel kanker payudara T47D, sementara fraksi air tidak menunjukkan aktifitas sitotoksik.



Gambar 4. Foto sel kanker payudara T47D di sumuran plate sebagai control (A) dan diberi perlakuan dengan fraksi heksan (B), fraksi etil asetat (C) dan fraksi air (D), masing-masing pada konsentrasi  $10 \mu\text{g/ml}$  (perbesaran 10x).

Dengan demikian fraksi heksan dan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D, sedangkan pada fraksi air tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  di atas  $20 \mu\text{g/ml}$ .

Sebelumnya telah dilakukan penelitian mengenai uji sitotoksik dari ekstrak etanol kulit buah asam kandis dengan nilai  $IC_{50} 19,33 \mu\text{g/ml}$  (Sutma, 2012).

Sehingga dari pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol kulit buah asam kandis lebih tinggi dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  dari hasil fraksinasi ekstrak etanol kulit buah asam kandis dan bisa dikatakan bahwa hasil fraksinasi dari ekstrak etanol kulit buah asam kandis lebih besar khasiat nya sebagai anti kanker dibandingkan dengan ekstrak etanol kulit buah asam kandis tersebut.

Dari pemeriksaan metabolit yang telah dilakukan diketahui bahwa kulit buah asam kandis mengandung senyawa fenolik.

Senyawa fenolik dikenal dengan aktivitasnya sebagai antioksidan. Kemungkinan, efek sitotoksik dari kulit buah asam kandis ini, salah satunya berkaitan dengan kandungan fenoliknya. Fenolik berperan sebagai antioksidan karena dapat menangkap radikal bebas dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Pemberian atom hidrogen ini akan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan berhenti melakukan gerakan ekstrim, sehingga tak merusak lipida, protein, dan DNA (materi genetik) yang menjadi target kerusakan seluler. Dengan mekanisme seperti itu, radikal bebas dapat dihancurkan atau distabilkan yang pada akhirnya dapat menekan terjadinya kanker (Shahidi, *et al.*, 1995).

#### b) Pengolahan data menggunakan ANOVA satu arah

Dari hasil pengolahan data menggunakan uji Analisa Varian (Anova) satu arah yang membandingkan antara persentase viabilitas sel kanker payudara



T47D dengan konsentrasi sediaan uji fraksi heksan kulit buah asam kandis didapatkan nilai yang signifikan ( $p = 0,002$ )  $< 0,05$  dengan nilai F hitungnya 12,519, dan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis didapatkan nilai yang signifikan juga yaitu ( $p = 0,001$ )  $< 0,05$  dengan nilai F hitungnya 15,290, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dari masing-masing konsentrasi sediaan uji dan menunjukkan bahwa pemaparan fraksi heksan dan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis memberikan pengaruh yang berbeda nyata antar kelompok konsentrasi sediaan uji terhadap persentase viabilitas sel kanker payudara T47D. Sedangkan hasil yang didapat dari fraksi air kulit buah asam kandis ternyata tidak signifikan yaitu ( $p = 0,169$ )  $> 0,05$  dengan nilai F hitungnya 2,176, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang tidak bermakna dari masing-masing konsentrasi sediaan uji dan menunjukkan bahwa pemaparan fraksi air kulit buah asam kandis tidak memberikan pengaruh yang

nyata antar kelompok konsentrasi sediaan uji terhadap persentase viabilitas sel kanker payudara T47D.

Hasil pengolahan data lanjutan yang menggunakan uji wilayah berganda duncan menunjukkan dua subset yang berbeda antara fraksi heksan kulit buah asam kandis pada kelompok yang memiliki konsentrasi 100 dan 10  $\mu\text{g/ml}$  dengan kelompok yang memiliki konsentrasi 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ , dan demikian pula pada fraksi etil asetat kulit buah asam kandis menunjukkan dua subset yang berbeda antara kelompok yang memiliki konsentrasi 100 dan 10  $\mu\text{g/ml}$  dengan kelompok yang memiliki konsentrasi 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ , nilai persentase viabilitas dari tiap subset menunjukkan adanya penurunan, dimulai dari konsentrasi 0,1  $\mu\text{g/ml}$  sampai ke konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan pada fraksi air kulit buah asam kandis tidak memiliki perbedaan dan hanya menunjukkan satu subset saja pada kelompok yang memiliki konsentrasi 100, 10, 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ .

## KESIMPULAN

Berdasarkan data hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa fraksi heksan dan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber baru dalam mengembangkan obat kanker. Namun, masih diperlukan penelitian lebih

lanjut dengan melakukan isolasi murni terhadap fraksi heksan dan fraksi etil asetat kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) untuk menyelidiki senyawa aktif antikanker pada fraksi tersebut yang bersifat sitotoksik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abcam. (2007). T47D (Human ductal breast epithelial tumor cell line) Whole Cell Lysate (ab 14899) data sheet. <http://www.abcam.com/index.html> data sheet = 14899, diakses November 2012
- Abcams, G.D. (1994). Gangguan pertumbuhan, proliferasi dan differensiasi sel. In S.A. Price, L.M. Wilson (Eds). *Patofisiologi, konsep klinis proses-proses penyakit*. (Edisi 4). Buku I. Penerjemah: P. Anugerah. Jakarta: EGC.
- American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures. (2009-2010). Atlanta: American Cancer Society, Inc.; 2009
- American Cancer Society. Cancer Facts & Figures . (2010). Atlanta: American Cancer Society; 2010.
- Burdall, E.S., Hanby M.A., Landsdown, R.J.M., dan Speirs, V. (2003), Breast Cancer Cell Line, Breast Cancer Res., 5(2): 89-95.
- Burkill, I. (1966). A Dictionary of the Economic Products of the Malay

- Peninsula., 2nd ed. Ministry of Agriculture and Co-Operatives, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Campbell, A. N, J. B. Reece, L.G. Mitchell. (2002). *Biology*. Erlangga. Jakarta
- Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG, and Taylor MR. (2008). *Biology*. 4<sup>th</sup> Ed. , Addison Wesley World Student Series, San Fransisco.
- CCRC. (2009). *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metoda MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Clarke RB, Howell A, Anderson E. (1997). *Breast Cancer Res. Treat.*, 45: 121-133.
- Corner, J. (2001). *What is the cancer*. In. J. Corner C. Bailey *Cancer nursing care in context*. Oxford : Blackwell Publishing.
- Darwito, Suwito. (2009). Omega-3 dan Kanker Payudara. <http://darwitosuwitosaridinsangpembaharu.blogspot.com/2009/03/pengertian-kanker-payudara-kanker.html>. (diakses tanggal 27 November 2012).
- Departemen Kesehatan, (2009). *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Djajanegara, I. & Wahyudi, P. (2010). Uji Sitotoksitas Ekstrak etanol Herba ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap Sel T47D secara In Vitro. *J. Ilmu Kefarmasian Ind.* 8, (1), 41-47.
- Dipiro Joseph., Talbert, Robert L., Yee, Gary C (2008). *Pharmacotherapy: A Pathophysiology Approach* (7<sup>th</sup> Edition). New York: The Mc Graw-Hill Companies Inc.
- Dipiro Joseph T., Barbara G.Wells, Terry L. Schwinghammer and Cecily V. (2009). *Pharmacotherapy Handbook*, 2009, 7th Edition. New York: The Mc Graw-Hill Companies Inc.
- Doyle, A., dan Griffiths, J. B. (2000). *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Willey and Sons Ltd. : New York.
- Freshney, R.I., (2004), *Animal Cell Culture, A Practical Approach*, 4th Ed. IRL Press: Washington DC.
- Guyton, A. C. (1997). *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Setiawan, I. (Ed IX). Jakarta : EGC.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2006). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran* (Edisi X). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hanahan,D., R. A. Weinberg,. (2000) "The Halfmark of Cancer", *Cell*, 100:57-70.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Yayasan SaranaWana Jaya.
- Hirshaut & Pressman, (1992). <http://id.wikipedia.org>. Diakses pada tanggal 1 Oktober 2010.
- Jabit, Md. Lip, Wahyuni, F.S, Rozida, K., Ahmad, I.D., Khozirah, S., Lajis Nordin H, & Johnson, S. (2009). Cytotoxic and nitric oxide inhibitory activities of methanol extracts of *Garcinia* species. *Pharmaceutical Biology*. 47(11): 1019–1026.
- Jena, B. S., Jayaprakasha, G. K., and Sakariah, K. K. (2002). Organic acids from leaves, fruits, and rinds of *Garcinia cowa*. *Journal of Agricultural and food chemistry* 50 (12): 3431-3434.
- Jochems, Carlo. (2009). *Fetal Bovine Serum: Are Cell Cultures Cruelty Free*. Diakses dari: <http://www.all-creatures.org/clct/ar-fetal.html>. Diakses tanggal: 29 Mei 2012.
- Jong, Wim de. (2004). *Kanker, apakah itu? pengobatan, harapan hidup dan dukungan keluarga*. Terjemahan: Astoeti Suharto Heerdjan, Arcan: Jakarta. Hal 2-16.
- Kasugai S, Hasegawa N and Ogura H.(1991). *Application of the MTT colorimetric assay to measure cytotoxic effect of phenolic compound on established rat pulp cells*. *J. Dent Res.* 70: 127-130.
- Kenji, M., Yukihiro, A., Emi, K., Tetsuro, I., Kenji, O., Toshiyuki, T., Munekazu,

- I., & Yoshinori, N. (2003). Cytotoxic benzophenone derivatives from *Garcinia* species display a strong apoptosis-inducing effect against human leukemia cell lines. *Biol Pharm Bull.* 26: 569–571.
- Kuswibawati, Luciana. (2000). *Apa Itu Kanker*. Yogyakarta: Penerbit Universitas Sanata Dharma.
- Knight, L. (2007). The Cell. In J.A. Gabriel (Ed). *The biology of cancer* (pp.33-43). Chichester : John Wiley & Sons Ltd.
- Lee, C.C & Houghton, P. (2005). Cytotoxicity of plants from Malaysia and Thailand used traditionally to treat cancer. *J Ethnopharmacol*, 2005; 100: 237-243.
- Lisdawati, Vivi, dkk. (2007). “Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Lignan dan Asam Lemak dari Ekstrak Daging Buah *Phaleria Macrocarp*”. *Bul. Penel. Kesehatan* 35, 3: 115 – 124.
- Maryati & Sutrisna, EM. (2007). Potensi Sitotoksik Tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L) terhadap Sel HeLa. *Pharmacon*. Vol. 8, No.1, Juni 2007.
- Melannisa, R. (2004). Pengaruh PGV-1 pada Sel Kanker Payudara T47D yang diinduksi 17 $\beta$ -Estradiol: Kajian Antiproliferasi, Pemacuan Apoptosis dan Antiangiogenesis, (Tesis). Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Moeljopawiro, S., M.R. Anggela, D. Ayuningtyas, B. Widaryanti, Y.Sari, dan I.M.Budi. (2007). “Pengaruh Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Terhadap Pertumbuhan Sel Kanker Payudara dan Sel Kanker Usus Besar”. *Berkala Ilmiah Biologi* 6, 2 : 121 – 130.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Method*, 16;65(1-2), 55-63.
- Murray, R. K.(1999). *Kanker, gen kanker dan faktor pertumbuhan*. In R. K. Murray et al.(Eds.) *Biokimia Harper*, Ed 24. Jakarta : EGC
- Nafrialdi, & Gan, S,. (1995) *Antikanker dan imunosupresan*. In Ganiswara, S. G. et al, (Eds.) *Farmakologi dan terapi*, Ed. 4, Jakarta : UIP.
- Na Pattalung, P., Thongtheeraparp, W., Wiriyaichitra , P. & Taylor, W.C. (1994). Xanthones of *Garcinia cowa*. *Planta Med.* 60: 365-368.
- Panthong, K., Pongcharoen, W., Phongpaichit, S., & Taylor, W.C. (2006). Tetraoxygenated xanthones from the fruits of *Garcinia cowa*. *Phytochemistry.* 67 (2006) 999–1004
- Peres, V., Nagem, T.J., & Fernando, O. (2000). Tetraoxygenated naturally occurring xanthones. *Phytochemistry.* 55: 683–710.
- Poomipamorn, S. & Kumomg, A. (1997). *Edible Multipurpose ree Species Faung Fa*. Bangkok: Printing (in Tai).
- Pollard, Thomas D., William C. Earnshaw. (2004). *Cell Biology*. Philadelphia Saunders.
- Rao, R. R. (1981). *Ethnobotany of Meghalaya: Medicinal Plants Used by Khasi and Garo Tribes*. *Economic Botany* 35(1):4-9.
- Rukachaisirikul, V., Trisuwan, K., Sukpondma, Y., & Phongpaichit, S. (2008). A new benzoquinone derivative from the leaves of *Garcinia parvifolia*. *Arch Pharm Res.* 31: 17–20.
- Sadaquat, A., Renee, G., Subramaniam, S., Bleaulieu, C., & Spino, C. (2000). Benzophenones of *Garcinia pseudoguttifera* (Clusiaceae). *Phytochemistry.* 53: 281–284.
- Shahidi, F. and M. Nacz. (1995). *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*. Ed. Technomic Publishing Co. Inc.
- Schafer, J.M., Lee, E.S., O'Regan, R.M., Yao, K., dan Jordan, V.C. (2000).

- Rapid Development of Tamoxifen-stimulated Mutant p53 Breast Tumors (T47D) in Athymic Mice, *Clinical Cancer Research*, 6, 4373-4380.
- Sutma, S. (2012). *Uji Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis (Garcinia cowa Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metoda MTT*. (Skripsi). Padang: F.Farmasi, UNAND.
- Tjay, T.H., Rahardja, K. (2002). *Obat-obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.
- Van De Graaff, K.M., S. I. (1995). *Concepts human of anatomy and physiology*. Fourth Edition. Dubuque, Bogota, Boston, London: Wm. C. Brown Publishers.
- Verma, S.P., Goldin, B.R., and Lin, P.S.. (1998). *The Inhibition of the Estrogenic Effects of Pesticides dan Enviromental Chemicals by Curcumin and Isoflavonoids*. *Envir. Health Presp*, 106 (12), 807-812.
- Wahyuni, F.S., Byrne, L.T., Dachriyanus, Dianita, R., Jubahar, J., Lajis, N.H., & Sargent, M.V., (2004). A New Ring-Reduced Tetraprenyltoluquinone and a prenylated xanthone from *Garcinia cowa*. *Aust. J. Chem.* 57: 223-226.
- Whitmore, T.C. (1973). *Guttiferae*. In T.C.Whitmore (ed.) *Tree Flora of Malaya 2*: 162-236. Kuala Lumpur, Longman Malaysia.
- Yarbro, C., Frogge, M. and Goodman, M. (2005). *Cancer nursing: principles and practice*, 6<sup>th</sup> ed., Boston, MA: Jones and Bartlett Publishers.
- Zampieri, L., Bianchi, P., Ruff, P., dan Arbuthnot, P. (2002). *Differential modulation by estradiol of P-glycoprotein drug resistance protein expression in cultured MCF7 and T47D breast cancer cells*, *Anticancer Res.*, 22(4):2253-9

## IDENTIFIKASI GEN BABI PADA MARSHMALLOW MENGGUNAKAN KIT OLIPRO DALAM TEKNIK *PCR* DAN *SOUTHERN HYBRIDIZATION* PADA CHIP

Hefi Kurnia Sari\*, Marlina<sup>1</sup>, Mutalib, S.A<sup>2</sup>, Islami, S.N<sup>1</sup>, Fitria, A<sup>1</sup>

1. Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Indonesia 25162.

2. Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia  
Bangi, Malaysia 43600

### ABSTRAK

Identifikasi gen babi pada (permen lunak) *Marshmallow* telah dilakukan dalam penelitian ini. DNA spesifik diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Identifikasi kualitatif terhadap hasil amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Metode *Southern hybridization* pada *Chip* digunakan untuk melihat hasil pendeteksian secara jelas. Dalam metode ini sejumlah *Olipro porcine* KIT digunakan untuk membantu proses pendeteksian. Hasil proses PCR dan *Southern Hybridization* pada *Chip* menunjukkan bahwa semua sampel *marshmallow* tidak mengandung unsur babi.

Key Words: *Marshmallow*, *Olipro porcine* KIT, PCR, *Southern hybridization*, *Chip*.

### PENDAHULUAN

Persaingan antar industri pangan semakin ketat. Hal ini terlihat ketika kebanyakan produsen berlomba-lomba untuk menarik perhatian masyarakat dengan menghasilkan produk baru atau produk lama yang telah dimodifikasi dengan rasa baru. Namun, untuk dapat meningkatkan penjualan dan memperluas pemasaran diperlukan kreativitas dalam menciptakan suatu produk yang dapat diterima kehalalannya oleh konsumen (Sartika, 1995).

Bahan tambahan yang sering digunakan dalam proses produksi makanan adalah gelatin. Penggunaan gelatin dalam industri pangan saat ini cukup luas, mulai dari makanan emulsi, pasta, permen lunak, minuman hingga kapsul. Gelatin sampai saat ini di Indonesia keberadaannya masih didatangkan dari hasil impor. Tahun 2003, Indonesia mengimpor lebih dari 6200 ton gelatin dari berbagai negara (Perancis, Jepang, India, Brazil, Jerman, Cina, Argentina, dan Australia) (Pusat Data dan Informasi Deperindag 2004).

Kondisi tersebut sangat meresahkan masyarakat. Karena gelatin yang biasa digunakan dalam industri pangan umumnya berasal dari sapi atau babi. Di Indonesia,

gelatin dari babi dilarang penggunaannya dalam suatu bahan atau produk pangan karena kondisi kehalalannya dan berkaitan dengan penduduk Indonesia yang mayoritas beragama Islam. (Sartika, 1995)

Akhir-akhir ini terjadi kemajuan teknologi yang pesat dalam bidang biologi molekuler. Teknologi ini mempermudah pengujian atau pendeteksian akan adanya kontaminasi bahan lain diluar bahan aslinya (Margawati & Ridwan, 2010). Metode yang biasa digunakan berdasarkan pada pendeteksian molekul DNA spesifik menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Tanabe, *et al.*, 2007).

*Marshmallow* merupakan salah satu produk makanan terproses, dibuat dengan pemanasan tinggi dan pH rendah. Akibatnya, terjadi degradasi dan hidrolisis enzim pada jenis produk terproses ini, sehingga membuat kualitas DNA dalam produk terproses menjadi rendah (Applewhite, *et al.*, 2012). Untuk itu dibutuhkan teknik pendeteksian lanjutan untuk membantu sensitifitas kerja alat PCR. Maka, pada penelitian ini dipilih metode *Southern hybridization* sebagai metode lanjutan. Dengan metode ini gen yang terdapat dalam DNA sampel pada

produk terproses dapat dideteksi dengan baik (Sahilah, *et al.*, 2012). Metode southern hybridization ini menggunakan kit Olipro<sup>®</sup> sebagai reagen dalam proses pendeteksian sampel (Olipro, 2009).

## Alat dan Bahan

### Alat

Mesin PCR (eppendorf<sup>®</sup>), oven hibridisasi (Olipro Biotechnology<sup>®</sup>), *Orbital Shaker* (Labnet<sup>®</sup>), tabung eppendorf (eppendorf<sup>®</sup>) 1.5 ml, tip eppendorf<sup>®</sup> (10 µl, 100µl, 1000µl), vortex (Felt<sup>®</sup>), spektrofotometer maestronano (maestrogen<sup>®</sup>), sentrifugator (eppendorf<sup>®</sup>), autoklaf (Hirayama<sup>®</sup>), inkubator (Mettler<sup>®</sup>), Oven (panasonic<sup>®</sup>), gelas ukur, erlenmeyer, tube PCR (eppendorf<sup>®</sup>), collection tube (DNeasy<sup>®</sup> Tissue Kit (QIAGEN<sup>®</sup>)), QIAamp Spin column (DNeasy<sup>®</sup> Tissue Kit (QIAGEN<sup>®</sup>)) microcentrifuge tube, pisau pemotong steril/

surgical blade (Xinda<sup>®</sup>), aluminium foil, pipet mikro (eppendorf<sup>®</sup>) 0,1-10 µl ; 10-100 µl; 100 -1000 µl, timbangan digital, perangkat elektroforesis (Elite 300<sup>®</sup>), gel documentation system (Alpha Imager<sup>®</sup>), freezer (Dairei<sup>®</sup>), ice box, kertas parafilm, Bio chip (Olipro Biotechnology<sup>®</sup>), beaker glass, falcon tube.

### Bahan

Marshmallow, kontrol positif (DNA babi), kontrol negatif (*Nucleas Free Water*), kit isolasi DNeasy<sup>®</sup> Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany; buffer ATL, buffer AL, proteinase k, buffer AW1, buffer AW2, buffer AE), mastermix PCR Olipro<sup>®</sup> (primer, dNTP, MgCl<sub>2</sub>, IC, dan buffer), DNA Taq Polymerase, aquadest steril, DNA ladder 100bp (Pure Extreme<sup>®</sup>), loading dye (Pure Extreme<sup>®</sup>), Ethanol 100 %, agarose powder, ethidium bromide, Tris Acetate EDTA (TAE), Reagen hibridisasi (Olipro<sup>®</sup>) dan DNA removal (Oligon<sup>®</sup>).

## METODE PENELITIAN

### Sampel

Empat jenis Marshmallow yang tidak memiliki label halal dari MUI berasal dari empat Supermarket yang terdapat di Kota Padang. Sampel ini dikumpulkan pada bulan November 2012.

### Isolasi DNA

Isolasi DNA menggunakan kit QIAGEN dengan jumlah total sampel yang digunakan adalah 20 mg. Sampel di potong kecil kemudian dimasukkan ke dalam 1,5 ml tabung eppendorf. Uji kualitatif dilakukan untuk melihat keberadaan DNA dalam sampel dengan menggunakan analisis spektrofotometer (Maestrogen<sup>®</sup>). DNA template disimpan pada suhu -20°C.

### Amplifikasi PCR

Komponen PCR yang dibutuhkan untuk proses ini yaitu reagen PCR mastermix 19,6 µl, Taq DNA polymerase 0,5 µl, DNA template 10µl, dan NFW (*nucleas free water*) 19,9 µl. Total volume untuk komponen PCR yang digunakan adalah 50 µl untuk setiap sampel. Kontrol negatif menggunakan NFW dan kontrol positif menggunakan DNA babi masing-masing sebanyak 10 µl. Proses amplifikasi PCR ini dilakukan sebanyak 47 siklus yang terdiri dari; pradenaturasi 95°C (5 menit), denaturasi 95°C (30 detik), annealing (penempelan) pada 55°C (30 detik), extension (pemanjangan) 72°C (30 detik), elongation (pemanjangan akhir) 72°C 5 menit). Hasil amplifikasi PCR dapat dilihat dengan teknik elektroforesis, menggunakan gel agarosa 2,5 % dan buffer TAE 1x pada tegangan 100 Volt selama 39 menit. Untuk memudahkan pengamatan, gel diwarnai dengan 0.5 µg/ml larutan editium bromida selama 5-10 menit

dan dilihat gambarannya dengan DNA *Gel Documentation system*. Pada foto dapat dilihat pola pemisahan pita-pita DNA yang panjang amplikonnya diketahui, dimana untuk DNA babi adalah 276 bp.

#### ***Southern Hybridization pada Chip***

Pada teknik ini produk PCR didenaturasi pada suhu 95°C selama 10 menit. Proses hibridisasi menggunakan OLIPRO® *Porcine Gene Chip* (OLIPRO, MY). Proses hibridisasi dilakukan dengan pencampuran produk PCR yang telah

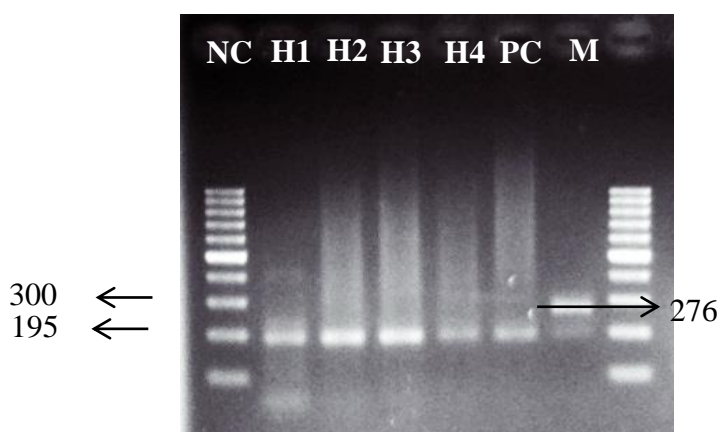
didenaturasi dengan reagen ke dalam chip (ketentuan sesuai protocol kit). Setelah itu, dilihat hasil proses *southern hybridization* menggunakan scanner olipro biotechnology® (OLIPRO, MY) yang mengandung probe target spesifik gen babi. Hasil positif mengindikasikan sampel mengandung DNA babi, hal ini ditunjukkan dengan terdapatnya 2 titik vertikal pada bagian tengah bawah chip. Dalam chip titik *internal control* mengindikasikan bahwa proses PCR dan *southern hybridization* berjalan dengan baik.

### **HASIL DAN DISKUSI**

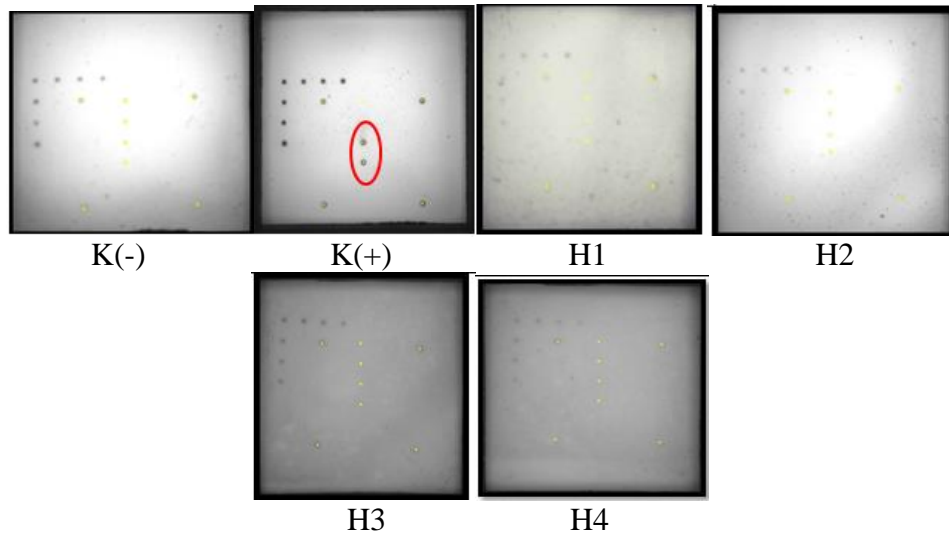
Hasil amplifikasi DNA menggunakan metode PCR-*southern hybridization* menunjukkan bahwa semua sampel *marshmallow* yang di uji negatif mengandung gen babi. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya pita DNA yang spesifik sama atau sejajar dengan kontrol positif yang digunakan berupa DNA babi pada 276 bp. (Gambar 1) dan tidak adanya visualisasi spot (gambar 2) pada 2 titik vertikal di bagian tengah paling bawah chip, menandakan pada sampel tidak terdapat gen babi.

Penampakan titik pada chip terjadi ketika sequen DNA target pada produk PCR diberi label dengan senyawa biotin (senyawa berfluorosensi atau dikenal sebagai vitamin

H) oleh reagen A. Senyawa biotin ini memiliki afinitas tinggi untuk mengikat avidin atau streptavidin alkalin fosfat (Strep-AP) yang merupakan protein hasil isolasi dari bakteri *Streptomyces avidinii*. Suhu optimum pada oven hibridisasi menyebabkan produk PCR yang telah berlabel biotin akan berikatan dengan probe pada membran nitroselulosa di dalam chip. Dimana probe ini memiliki nukleotida yang homolog dengan produk PCR. Dengan penambahan NBT/BCIP sebagai pewarna yang merupakan substrat dan akan berikatan dengan enzim strep-AP. Proses ini akan menimbulkan perubahan warna pada membran dalam chip menjadi ungu kebiruan (Olipro®, MY. 2009).



Gambar 1. Hasil gel elektroforesis dari analisis DNA babi. Deteksi sampel menggunakan *PCR OLIPRO porcine kit*. M; Marker (penanda ladder 100 bp); PC: kontrol positif, NC: Kontrol negatif; H1-H4: Sampel negatif mengandung gen babi.



Gambar 2. Scan process Southern hybridization menggunakan chip (Olipro® porcine kit). Dimana K(-): kontrol negatif, K(+): kontrol positif, H1-H4: sampel marshmallow.

Tabel 1. Hasil identifikasi pada ke empat sampel *marshmallow* menggunakan metode PCR dan *Southern hybridization* pada *Chip*

Label sampel	Jenis sampel <i>Marshmallow</i>	PCR	Metode <i>Southern hybridization</i>
H1	<i>Marshmallow</i> BBQ	-	-
H2	<i>Marshmallow</i> manis	-	-
H3	<i>Marshmallow</i> isi selai (jam)	-	-
H4	<i>Marshmallow</i> gula	-	-

Walaupun proses PCR merupakan metode yang cepat dan simple, tetapi dengan adanya metode *southern hybridization* ini

akan membantu sensitivitas kerja alat PCR terhadap proses pendeteksian.

## KESIMPULAN

Pendeteksian DNA babi menggunakan metode PCR-southern hybridization ini akan

lebih menghasilkan sensitivitas deteksi yang lebih baik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada UKM atas bantuan dana yang berasal dari UKM (Fundamental Research Grant Scheme), Malaysia yang telah bersedia mendukung

penelitian ini serta Olipro Biotechnology Sdn. Bhd untuk semua fasilitas lab dan bimbingannya dalam penelitian ini.

## REFERENSI



- Applewhite, L. A., Rasmussen, R. & Morrissey, M. 2012. Species identification of seafood. *The Seafood Industry: Species, Products, Processing, and Safety*, hlm. 193-212. West Sussex: Blackwell Publishing Ltd
- Olipro, MY. 2009. Olipro™ Porcine Gene chip. Diakses pada 10 Maret 2013 dari <http://www.oliprobiotech.com>.
- Pusat Data dan Informasi Departemen Perindustrian dan Perdagangan. 2004. *Data Impor Gelatin Tahun 1999 - 2003*. Jakarta
- Sahilah, A. M, Mohd. Fadly, L., Norrakiah, A. S., Aminah, A., Wan Aida, W. M., Ma'aruf, A. G & Mohd. Khan, A. 2012. Halal market surveillance of soft and hard gel capsules in pharmaceutical products using PCR and southern hybridization on the biochip analysis. *International Food Research Journal* 19(1): 371-37.
- Sartika, D. 2009. *Pengembangan Produk Marshmallow Dari Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (Lutjanus sp.)*.(skripsi). Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Tanabe, S., Hase, M., Yano, T., Sato, M., Fujimura, T., & Akiyama, H. 2007. A-real-time quantitative PCR detection method for pork, chicken, beef, mutton, and horseflesh in food. *Bioschi. Biotechnol. Biochem*, 71, 12, 3131-3135.

**PENGARUH PERSEPSI KEPALA KELUARGA MENGENAI KEKAMBUHAN PASIEN GANGGUAN JIWA BERAT TERHADAP KEPATUHAN DALAM MEMINUM OBAT SECARA TERATUR (SURVEY TERHADAP KELUARGA PASIEN RAWAT JALAN YANG BERKUNJUNG KE RUMAH SAKIT JIWA PROVINSI JAWA BARAT)**

**James Bertinus Sembiring**

(Apoteker Pada Rumah Sakit Jiwa Provinsi Jawa Barat )

*JL. Kolonel Masturi Km 7 Cisarua Bandung Barat Prov. Jawa Barat*

*Fax (022) 2700304 Email: [jamessembiring@yahoo.com](mailto:jamessembiring@yahoo.com)*

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: (1) pengaruh dari pembelajaran dan motivasi baik secara parsial maupun simultan terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan, (2) pengaruh dari persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan pasien gangguan jiwa berat dalam kepatuhan minum obat secara teratur, (3) perbedaan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian kepala keluarga tersebut.

Penelitian ini bersifat deskriptif dan verifikatif dengan metoda survey dimana teknik pengumpulan data dilakukan melalui wawancara dan kuesioner terhadap kepala keluarga pasien serta dalam pengolahan data menggunakan metoda analisis jalur (*path analysis*). Populasi dalam penelitian ini adalah kepala keluarga pasien yang terdaftar sebagai pelanggan Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat dan membayar secara tunai. Jumlah populasi yang aktif sebanyak 1676 pada tahun 2012 dan dengan menggunakan teknik sampel acak sederhana (*sample random sampling*) diperoleh minimal sebanyak 95 kepala keluarga pasien.

Hasil pengujian terhadap data tersebut secara statistik dengan tingkat kepercayaan 95% membuktikan bahwa pembelajaran dan motivasi baik secara parsial maupun simultan berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan serta persepsi kepala keluarga tersebut berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam minum obat secara teratur. Disamping itu hasil pengujian data membuktikan bahwa terdapat perbedaan persepsi dari kepala keluarga mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian dari tiap kepala keluarga.

**Kata kunci:** pembelajaran, motivasi, kepribadian dan kekambuhan

**PENDAHULUAN**

Kambuh kembali merupakan masalah sangat penting dalam sistem penanganan gangguan jiwa berat dalam jangka panjang perawatan pasien yang dilakukan tenaga kesehatan dan keluarga pasien sendiri terutama kepala keluarga.

Frekuensi terjadinya kekambuhan pada pasien gangguan jiwa berat sangat tinggi, terutama disebabkan oleh ketidak patuhan pasien minum obat secara teratur. Masalahnya adalah seberapa jauh persepsi keluarga dalam hal ini kepala keluarga

mengetahui tentang kekambuhan, pada akhirnya mempengaruhi sistem perawatan/penanganan pasien gangguan jiwa berat oleh keluarganya di rumah. Frekuensi rawat kembali (diinapkan) ke Rumah Sakit Jiwa Prov. Jabar sangat tinggi: 8-10 kali datang untuk dirawat inap kembali per orang dalam jangka waktu satu tahun (sumber data dari Instalasi Rekam Medik).

Secara praktis gejala-gejala kambuh kembali dapat dideteksi (Sidharta Budiarto., 2003):

a. Gejala- gejala positif:

- Delusi/waham : isi pikiran yang tidak berdasarkan realita dan tidak dapat dikoreksi.
- Halusinasi: mengalami kesan melalui panca indra tanpa adanya sumber rangsang.
- Gangguan proses pikir: terwujud sebagai bicara yang sangat kacau dan tak dapat dimengerti.
- Tingkah laku yang aneh: tak bertujuan.
- Tingkah laku agresif.
- Rasa permusuhan.

b. Gejala-gejala negatif:

- Penumpukan/pendataran suasana hati.
- Penurunan dorongan sosial/isolasi.
- Kemiskinan ide dan pembicaraan.
- Perlambatan gerak.
- Pengurangan kehendak dan inisiatif.

Beberapa hal yang perlu diketahui keluarga pasien:

- a. Shizophrenia adalah suatu gangguan jiwa berat yang memerlukan pengobatan jangka panjang agar tidak terjadi kekambuhan.
- b. Gejala penarikan diri yang sudah ada sejak awal /permulaan sakit seringkali tetapi sulit dikendalikan oleh penderita.

Pengertian persepsi menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (1995) adalah sebagai berikut:

Persepsi adalah tanggapan (penerimaan) secara langsung dari sesuatu atau merupakan proses seseorang mengetahui beberapa hal melalui panca inderanya

Dari definisi di atas dapat dikatakan bahwa persepsi merupakan proses pemberian arti terhadap rangsangan yang datang dari luar. Dengan mengacu pada pengertian persepsi diatas, maka dapat terjadi situasi yang sama dipersepsikan secara berbeda oleh orang yang berlainan. Oleh karena itu persepsi berperan dalam cara memperoleh pengetahuan khusus tentang obyek atau kejadian pada saat tertentu, maka persepsi

terjadi ketika rangsangan mengaktifkan indera (Gibson., et al. 1997)

Faktor-faktor pembentuk persepsi ( Pareek Udai.. 1991) :

- a. Faktor-faktor intern.  
Meliputi kebutuhan psikologis, latar belakang, pengalaman, kepribadian dan penerimaan diri.
- b. Faktor-faktor ekstern.  
Meliputi intensitas, ukuran, kontras, gerakan, pengulangan, keakraban dan sesuatu yang baru.

Ada tiga hal pokok dalam faktor-faktor intern yang mempengaruhi pembentukan persepsi yaitu pembelajaran (*learning*), motivasi (*motivation*) dan kepribadian (*personality*) (Luthans Fred.2002):

a. Pembelajaran (*learning*).

Proses terjadinya perubahan yang relatif tetap dalam perilaku sebagai akibat dari pengalaman. Pengalaman dapat diperoleh baik melalui pendidikan/pelatihan-pelatihan formal yang sifatnya meningkatkan keterampilan (*skill training*) maupun karena praktek. Dengan perkataan lain pengalaman diperoleh baik melalui pendidikan yang sifatnya formal maupun non- formal.

b. Motivasi (*motivation*).

Motivasi adalah fungsi dari harapan (*expectancy theory*), valensi (*valence*) dan instrumen-talitas (*instrumentality*). *Expectancy* dimaksud sebagai persepsi seseorang akan probabilitas dari suatu usaha (*effort*) akan menghasilkan suatu prestasi (*performance*). *Instrumentality* dimaksud sebagai persepsi seseorang akan probabilitas suatu prestasi (*performance*) akan menghasilkan suatu hasil (*outcomes*).

*Valence* dimaksudkan sebagai persepsi seseorang akan nilai dari suatu hasil (*outcomes*).

c. Kepribadian (*personality*).

Metoda yang lazim digunakan untuk mengukur kepribadian salah satunya

adalah Myers-Briggs Type Indicator (MBTI). MBTI test pada dasarnya mengklasifikasikan seseorang berdasarkan empat katagori:

i. *Extravert/Introvert* (E atau I).

*Extravert* artinya tipe orang yang dalam bekerja cenderung lebih banyak berinteraksi dengan orang lain.

*Introvert* artinya tipe orang yang cenderung/lebih suka bekerja sendiri dari pada harus berinteraksi/bekerja sama dengan banyak orang.

ii. *Sensor/Intuitior* (S atau N).

*Sensor* artinya tipe orang yang menaruh perhatian terhadap informasi yang diperoleh melalui kelima panca indera dan terhadap apa yang sesungguhnya terjadi.

*Intuitior* artinya tipe orang yang menaruh perhatian terhadap informasi yang diperoleh melalui indera keenam/intuisi dan terhadap apa yang mungkin terjadi.

iii. *Thinker/Feeler* (T atau F).

*Thinker* artinya tipe orang yang suka memutuskan suatu hal secara logis dan objektif.

*Feeler* artinya tipe orang yang dalam memutuskan suatu hal cenderung berorientasi pada penilaian pribadi.

iv. *Judger/Perceiver* (J atau P).

*Judger* artinya tipe orang yang hidupnya terencana, terorganisasi dan

cepat mengambil suatu keputusan maupun kesimpulan.

*Perceiver* artinya tipe orang yang hidupnya lebih fleksibel dan spontan serta membiarkan suatu pilihan terbuka terhadap kemungkinan perubahan.

Penelitian dilakukan dengan maksud untuk memperoleh bukti-bukti empiris, sejauh mana pembelajaran (*learning*) dan motivasi (*motivation*) berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dan bagaimana pengaruh dari persepsi tersebut terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam kepatuhan meminum obat secara teratur.

Khusus mengenai faktor kepribadian, tidak dapat dilakukan pengujian untuk melihat pengaruhnya terhadap persepsi, karena data yang akan diperoleh disini adalah jenis/tipe kepribadian dari masing-masing kepala keluarga dimana data yang tersebut merupakan data nominal. Oleh karena itu, pengujian yang mungkin dilakukan disini terbatas hanya kepada uji beda dengan menggunakan statistik non-parameterik. Uji beda dilakukan untuk mengetahui sejauh mana terdapat perbedaan persepsi yang signifikan mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian (*personality*) dari kepala keluarga pasien tersebut.

## METODE PENELITIAN

Subjek dalam penelitian ini adalah pasien gangguan jiwa berat yang terdaftar di Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat sebagai pembayar tunai. Sedangkan objek dari penelitian ini adalah persepsi dari kepala keluarga pasien tersebut mengenai kekambuhan serta tingkat kepatuhan dari pasien gangguan jiwa berat. Selanjutnya peneliti menyebarkan angket/kuesioner serta wawancara langsung kepada kepala keluarga pasien untuk diisi seketika itu di rumah sakit. Selain itu keuntungan dari wawancara

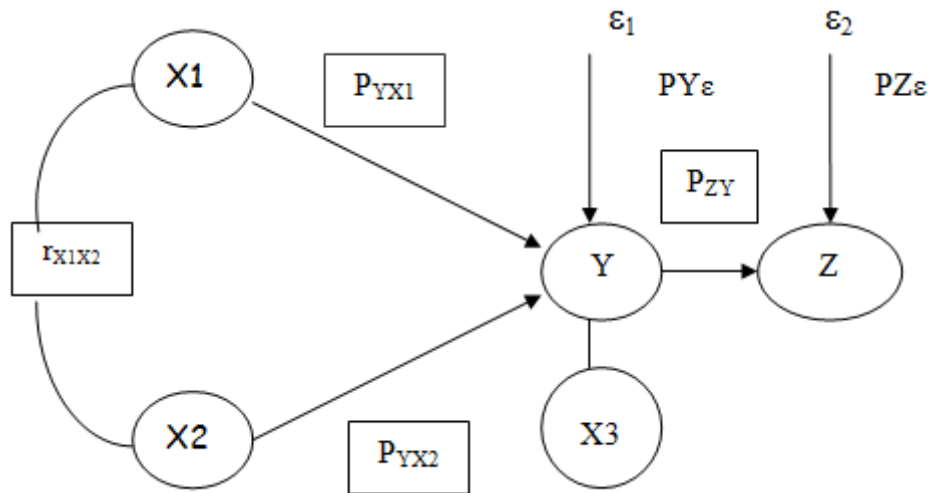
langsung adalah peneliti dapat mengetahui dengan jelas apa yang menjadi keluhan atau pun masalah dari pihak pasien/keluarga serta menghindari adanya salah interpretasi terhadap kuesioner.

Jenis penelitian ini adalah penelitian yang bersifat deskriptif dan verifikatif dan metode yang digunakan adalah metode survey, yaitu penelitian yang diadakan untuk memperoleh fakta-fakta dari gejala-gejala yang ada, dan mencari keterangan-keterangan secara faktual dan bersifat eksplanatori dimana hasil

penelitian ini akan memberikan penjelasan mengenai persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhannya serta pengaruhnya terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat tersebut dalam meminum obat secara teratur. Metoda survey eksplanatori adalah metode yang memberikan jawaban atas masalah yang

dihadapi dengan menjelaskan hubungan antara variabel melalui pengujian hipotesis (Singarimbun., 1995).

Hubungan struktural antara variabel dalam penelitian ini dapat dilihat dalam gambar berikut:



Gambar 1: Paradigma Hubungan Struktural Antar Variabel penelitian

**Keterangan:**

X1=Pembelajaran (*learning*) pada kepala keluarga.

X2 = Motivasi (*motivation*) pada kepala keluarga.

X3=Kepribadian (*personality*) pada kepala keluarga..

Y=Persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.

Z=Kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur.

Variabel-variabel yang dianalisis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pembelajaran (X1) meliputi:  
Pelatihan yang bersifat formal.  
Pengalaman praktis.
2. Motivasi (X2) meliputi:  
Harapan (*Expectancy*).  
Instrumentalitas (*Instrumentality*)  
Valensi (*Valence*)
3. Kepribadian (X3) meliputi :  
16 jenis/tipe kepribadian yang merupakan kombinasi dari 4 katagori kepribadian yaitu *Ekstraversion* atau *Introversion* (E atau I), *Sensing* atau

*Intuiting* (S atau N), *Thingking* atau *Feeling* (T atau F) dan *Judging* atau *Perceiving* (J atau P).

4. Persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan (Y)
5. Kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur (Z)

Secara sistematis seluruh variabel yang akan diukur dalam penelitian ini dapat disajikan dalam matrik operasional variabel seperti yang tergambar dalam tabel berikut ini:

TABEL 1: Operasionalisasi Variabel Penelitian

Variabel	Konsep	Sub Variabel	Indikator	Skala
Pembelajaran (X1)	Proses terjadinya perubahan yang relatif tetap dalam perilaku sebagai akibat dari pengalaman	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Pelatihan Formal</li> <li>■ Pengalaman Praktis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Penyuluhan/pelatihan yang diikuti</li> <li>◦ Lamanya menangani pasien kambuh</li> <li>◦ Lamanya menjadi kepala keluarga</li> <li>◦ Lamanya menjadi anggota keluarga</li> </ul>	Ordinal  Ordinal
Motivasi (X2)	Proses dalam mengarahkan perilaku kearah pencapaian tujuan organisasi	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Harapan (<i>expectancy</i>)</li> <li>■ Instrumen- talitas</li> <li>■ Valensi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Probabilitas dari keyakinan seseorang bahwa suatu <i>effort</i> akan diikuti oleh <i>performance</i> tertentu</li> <li>◦ Probabilitas dari keyakinan seseorang bahwa suatu <i>performance</i> akan diikuti oleh suatu <i>rewards</i></li> <li>◦ Probabilitas dari pendapat seseorang akan nilai dari suatu <i>rewards</i> baginya. Seberapa besar seseorang suka atau tidak suka menerima hasil tersebut</li> <li>◦ Myers-Briggs Type Indicator (MBTI)</li> </ul>	Rasio  Rasio  Rasio
Kepribadian (X3)	Seperangkat karakteristik yang relatif mantap yang mempengaruhi perilaku		<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Biaya yang dibayar oleh keluarga sebanding dengan manfaat/pelayanan yang diterima (adil dan merata)</li> </ul>	Nominal
Persepsi Kepala Keluarga mengenai kekambuhan (Y)	Pemahaman dan penafsiran dari kepala keluarga mengenai sistem terjadinya kekambuhan	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Keadilan (<i>equality</i>)</li> <li>■ Kepastian penanganan (<i>certainty</i>)</li> <li>■ Ketepatan saat penanganan (<i>convenience of treatment</i>)</li> <li>■ Pemungutan yang ekonomis (<i>economic of collections</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Dokter tahu melaksanakan kewajibannya sesuai SOP</li> <li>◦ Waktu yang tepat datang ke rumah sakit, dan ditangani menurut SOP</li> <li>◦ Tarif sudah efisien dan tidak memberatkan keluarga</li> <li>◦ Dosis obat tepat</li> <li>◦ Cara menyimpan obat tepat</li> <li>◦ Tanggal untuk kontrol kembali tepat guna menda-obat lagi</li> </ul>	Ordinal Ordinal Ordinal  Ordinal Ordinal
Kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur (Z)	Ketaatan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur			

Populasi yang menjadi objek penelitian ini dibatasi hanya pasien gangguan jiwa berat/keluarga pasien yang membayar tunai pembiayaannya. Setelah populasi penelitian ditentukan, langkah selanjutnya adalah menentukan banyaknya sampel minimal yang akan diambil dari populasi tersebut yaitu dengan menggunakan teknik penarikan sampel acak sederhana (*simple random sampling*) dan rumus Yamane:

$$n = \frac{N}{Ne^2 + 1}$$

Dimana :

n = Ukuran sampel minimal

e = Presisi yang ditetapkan

N= Ukuran populasi

1 = Angka Konstan

Dalam penelitian ini digunakan presisi 10% sehingga jumlah sampel minimal yang akan diteliti adalah:

$$\begin{aligned} n &= \frac{1676}{1676(0,1)^2 + 1} \\ &= 94,36 \approx 95 \end{aligned}$$

Dengan kata lain, jumlah sampel minimal dalam penelitian ini adalah sebanyak 95

Data yang diperlukan dalam penelitian ini adalah data primer yaitu data yang diperoleh dari jawaban responden yang terpilih sebagai sampel penelitian terhadap pernyataan-pernyataan yang diajukan dalam kuesioner.

Berkaitan dengan kegiatan pengumpulan dan pengolahan data, maka teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

#### a.Kuesioner.

Dalam rangka pengumpulan data, peneliti memberikan kuesioner yang merupakan seperangkat pertanyaan atau pernyataan yang harus dijawab atau dilengkapi oleh responden.

#### b.Wawancara.

Untuk melengkapi data yang telah diperoleh melalui pemberian kuesioner, maka peneliti juga melakukan wawancara terhadap sebagian kepala keluarga guna memperoleh informasi yang aktual mengenai kekambuhankeluhan dan kendala-kendala yang dialami.

#### c.Studi Kepustakaan.

Untuk melengkapi data penelitian ini diperlukan informasi tambahan yang diperoleh melalui buku-buku, jurnal-jurnal, majalah dan *website*.

Kesakhilan dari hasil penelitian ini sangat ditentukan oleh alat ukur yang digunakan. Untuk menguji apakah alat ukur tersebut dapat dipercaya maka perlu dilakukan dua macam pengujian yaitu uji validitas (uji kesakhilan) dan uji reliabilitas (uji keandalan).

Cara menghitung validitas dalam penelitian ini adalah dengan melihat daya pembeda butir pernyataan. Daya pembeda butir pernyataan dalam penelitian ini dilakukan dengan cara: "korelasi butir pernyataan-total". Korelasi butir pernyataan- total yaitu konsistensi antara skor butir pernyataan dengan skor secara keseluruhan yang dapat dilihat dari besarnya koefisien korelasi antara setiap butir pernyataan dengan skor keseluruhan.

Teknik korelasi uji validitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik korelasi *rank Spearman* yaitu:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$$

jika tidak ada data kembar

$$r_s = \frac{\sum R(X)R(Y) - n\left(\frac{n+1}{2}\right)^2}{\sqrt{\left(\sum R(X)^2 - n\left(\frac{n+1}{2}\right)^2\right)\left(\sum R(Y)^2 - n\left(\frac{n+1}{2}\right)^2\right)}}$$

$$r_s = \frac{\sum R(X)R(Y) - n\left(\frac{n+1}{2}\right)^2}{\sqrt{\left(\sum (R(X))^2 - n\left(\frac{n+1}{2}\right)^2\right)\left(\sum (R(Y))^2 - n\left(\frac{n+1}{2}\right)^2\right)}}$$

; jika ada data kembar

dimana:

R(X) : ranking skor butir pernyataan

R(Y) : ranking dari total jumlah skor keseluruhan butir pernyataan.

n : jumlah sampel untuk uji validitas.

D : selisih R(Y) dengan R(X)

Sedangkan untuk variabel kepribadian diuji dengan teknik korelasi pearson (*Pearson Product Moment*) dengan rumus sebagai berikut:

$$r = \frac{n\sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n\sum X^2 - (\sum X)^2][n\sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

dimana:

r = koefisien korelasi pearson

X = skor setiap item

Y = skor total dikurangi skor item tersebut

n = banyaknya sampel

Bila koefisien korelasi untuk seluruh butir pernyataan telah dihitung, perlu ditentukan angka terkecil yang dapat dianggap cukup "tinggi" sebagai indikator adanya konsistensi antara skor butir pernyataan dan skor keseluruhan. Dalam hal ini tidak ada batasan yang tegas. Prinsip utama pemilihan butir pernyataan dengan melihat koefisien korelasi adalah mencari harga koefisien yang setinggi mungkin dan menyingkirkan setiap butir pernyataan yang mempunyai korelasi negatif (-) atau koefisien yang mendekati nol (0,00). Biasanya dalam pengembangan dan penyusunan skala-skala psikologi, digunakan harga koefisien korelasi yang minimal sama dengan 0,30 (Saifuddin Azwar., 1997).

Pengukuran yang memiliki reliabilitas tinggi, yaitu pengukuran yang mampu memberikan hasil ukur yang terpercaya (reliabel) artinya sejauh mana skor hasil pengukuran terbebas

dari kekeliruan pengukuran (*measurrement error*).

Formula yang digunakan untuk menghitung koefisien reliabilitas *Alpha-Cronbach* sebagai berikut:

$$\alpha = \frac{k}{k-1} \left( 1 - \frac{\sum_{i=1}^k S_i^2}{S^2_{total}} \right)$$

dimana:

k = banyaknya butir pernyataan

Si2 = varians dari skor butir pernyataan ke-I

S<sup>2</sup> total = varians dari total skor keseluruhan butir pernyataan

Sedangkan rumus varians yang digunakan (Saifuddin Azwar 1997 :78) adalah:

$$S^2 = \frac{1}{(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

dimana:

S<sup>2</sup> = varians

x<sub>i</sub> = skor yang diperoleh responden ke-I

$\bar{x}$  = rata-rata

n = banyaknya responden

x<sub>i</sub> = skor yang diperoleh responden ke-i

Setelah nilai koefisien reliabilitas diperoleh, maka perlu ditetapkan suatu nilai koefisien reliabilitas paling kecil yang dianggap reliabel. Dimana disarankan bahwa koefisien reliabilitas antara 0,70 - 0,80 cukup baik untuk tujuan penelitian dasar (Kaplan and Saccuzzo., 1993)

Hipotesis yang akan diuji:

1. Variabel pembelajaran dan motivasi berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.
2. Persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur.



3. Terdapat perbedaan persepsi mengenai kekambuhan diantara kepala keluarga berdasarkan tipe kepribadian masing-masing kepala keluarga.

Oleh karena sebagian besar data penelitian yang diperoleh nantinya dalam bentuk skala pengukuran ordinal dengan menggunakan skala *likerts* sedangkan uji *path analysis* data sekurang-kurangnya berskala interval, maka data tersebut harus terlebih dahulu dinaikkan sekala pengukurannya dari berskala ordinal menjadi berskala interval dengan menggunakan metoda interval berurutan (*Method of Successive Interval*).

Langkah kerja *Method of Successive Interval* adalah sebagai berikut:

1. Hitung frekuensi (f) responden setiap pertanyaan.
2. Tentukan proporsi setiap frekuensi.

$$P_i = \frac{f_i}{n} \quad \text{dimana: } i = 1, 2, 3, 4, 5$$

3. Tentukan proporsi kumulatifnya

$$Pk_1 = 0 + P_1$$

$$Pk_2 = Pk_1 + P_2$$

$$Pk_3 = Pk_2 + P_3$$

$$Pk_4 = Pk_3 + P_4$$

$$Pk_5 = Pk_4 + P_5$$

4. Proporsi kumulatif (Pk) dianggap mengikuti distribusi normal baku, selanjutnya tentukan nilai Z untuk setiap kategori.
5. Hitung SV (scale value = nilai skala) dengan formula sebagai berikut:

$$SV = \frac{\text{Density at lower limit} - \text{Density at upper limit}}{\text{Area under upper limit} - \text{Area under lower limit}}$$

6. Scale value yang nilainya terkecil (harga negatif terbesar) diubah menjadi sama dengan satu (1), selanjutnya dilakukan transformed scale value dengan rumus:

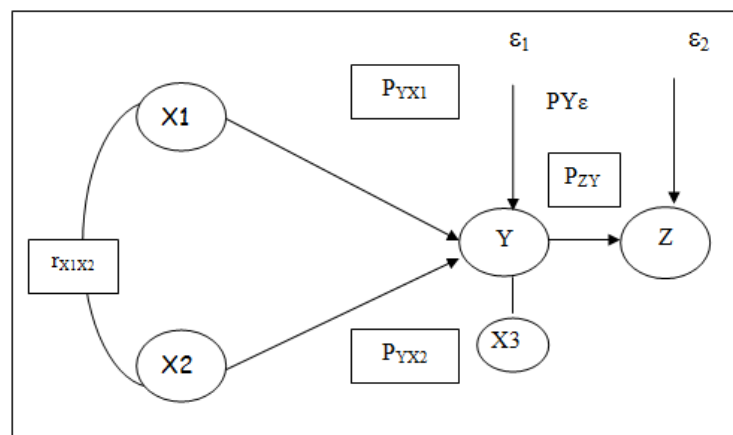
$$Y = \text{scale value} + (\text{scale value}_{\min})$$

Berdasarkan pola model struktur seperti yang dinyatakan dalam gambar 2, selanjutnya dilakukan pengujian hipotesis dengan menggunakan metode analisis jalur (*path analysis*) yang dikembangkan oleh Sewall Wright dengan tujuan menerangkan akibat langsung dan tidak langsung seperangkat variabel lainnya yang merupakan variabel akibat.

Asumsi yang mendasari analisis jalur (*path analysis*) adalah sebagai berikut:

1. Hubungan antar variabel haruslah linear dan aditif.
2. Semua variabel residu tidak mempunyai korelasi satu sama lain.
3. Pola hubungan antar variabel adalah rekursif (pola yang tidak melibatkan arah pengaruh yang timbal balik).
4. Tingkat pengukuran semua variabel sekurang-kurangnya interval.

Konseptual analisis penelitian yang menggunakan model analisis jalur tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2: Konseptual Analisis Penelitian

**Keterangan:**

- X1 = Pembelajaran (*learning*) pada kepala keluarga.  
 X2 = Motivasi (*motivation*) pada kepala keluarga.  
 X3 = Kepribadian (*personality*) pada kepala keluarga..  
 Y = Persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.  
 Z = Kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur.  
 $P_{YX1}$  = Koefisien jalur dari variabel X1 terhadap Y  
 $P_{YX2}$  = Koefisien jalur dari variabel X2 terhadap Y  
 $r_{X1X2}$  = Koefisien korelasi antara variabel X1 dengan X2  
 $P_{Y\epsilon_1}$  = Error atau variabel lain yang tidak dimasukkan dalam model penelitian  
 $P_{Z\epsilon_2}$  = Error atau variabel lain yang tidak dimasukkan dalam model penelitian  
 $P_{ZY}$  = Koefisien korelasi antara variabel Z dengan variabel Y

Berdasarkan gambar tersebut dapat diuraikan 3 tahap pengujian hipotesis yaitu tahap pertama adalah pengujian untuk melihat hubungan kausal antara X1 dan X2 terhadap Y seperti yang dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut:

$$Y = P_{YX1}X1 + P_{YX2}X2 + PY\epsilon \text{ (persamaan 1)}$$

Dalam persamaan ini terdapat dua buah variabel eksogen X1 dan X2 dan sebuah variabel endogen Y. Langkah kerja yang perlu dilakukan berdasarkan data yang ada adalah sebagai berikut:

1. Menghitung koefisien korelasi antar variabel dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$r_{YX_j} = \frac{n \sum_{h=1}^n X_{jh} Y_h - \sum_{h=1}^n X_{jh} \sum_{h=1}^n Y_h}{\sqrt{\left[ n \sum_{h=1}^n X_{jh}^2 - \left( \sum_{h=1}^n X_{jh} \right)^2 \right] \left[ n \sum_{h=1}^n Y_h^2 - \left( \sum_{h=1}^n Y_h \right)^2 \right]}}; j = 1, 2$$

2. Membuat matriks korelasi antar variabel yang menyusun struktur tersebut

$$R_1 = \begin{vmatrix} Y & X_1 & X_2 \\ r_{YY} & r_{YX1} & r_{YX2} \\ Y & r_{X1X1} & r_{X1X2} \\ X1 & X2 & r_{X2X3} \end{vmatrix}$$

3. Menghitung matriks invers  $R_1^{-1}$

$$R_1^{-1} = \begin{vmatrix} Y & X_1 & X_2 \\ CR_{YY} & CR_{YX} & CR_{YX2} \\ Y & CR_{X1X1} & CR_{X1X2} \\ X1 & X2 & CR_{X2X2} \end{vmatrix}$$

4. Menghitung koefisien korelasi jalur

$$P_{YXi} = \frac{-CR_{YXi}}{CR_{YY}}; i = 1, 2$$

5. Menghitung koefisien determinasi total dari X1, dan X2, terhadap Y dengan rumus sebagai berikut:

$$R^2_{Y(X1, X2)} = (P_{YX1} \ P_{YX2}) \begin{pmatrix} r_{YX1} \\ r_{YX2} \end{pmatrix}$$

6. Menghitung koefisien jalur dari variabel residu ke Y dengan rumus sebagai berikut :

$$P_{Y\epsilon} = \sqrt{1 - R^2_{Y(X1, X2)}}$$

7. Menguji kebermaknaan (test of Significance) setiap koefisien jalur yang telah dihitung.

- a). Pengujian secara serempak/ keseluruhan  
 $H_0: P_{YX} = 0$   
 (Tidak terdapat hubungan antara  $X_1$  dan  $X_2$  terhadap  $Y$ )  
 $H_1: P_{YX_i} \neq 0$  (Sekurang- kurangnya ada satu variabel  $X$  yang mempengaruhi  $Y$ ),  $i = 1, 2$

Statistik uji yang digunakan adalah:

$$F = \frac{(n-k-1) R^2_{YX_1 X_2}}{k (1-R^2_{YX_1 X_2})}$$

$H_0$  diterima jika  $F_{hitung} \leq F_{tabel}$   
 $H_0$  ditolak jika  $F_{hitung} > F_{tabel}$

- b). Pengujian secara individual  
 $H_0 = P_{YX_i} = 0$  (tidak terdapat pengaruh)  
 $H_i = P_{YX_i} \neq 0$  (terdapat pengaruh),  $i = 1, 2$

Statistik uji yang digunakan adalah

$$t = \frac{P_{YX_i}}{\sqrt{\frac{[1 - R^2_{Y(X_1 X_2 X_3)}] C_{ii}}{n - k - 1}}} ; i = 1, 2$$

$H_0$  diterima jika  $t_{hitung} \leq t_{tabel}$   
 $H_0$  ditolak jika  $t_{hitung} > t_{tabel}$   
 Statistik uji yang digunakan adalah

$$t = \frac{P_{YX_i}}{\sqrt{\frac{[1 - R^2_{Y(X_1 X_2 X_3)}] C_{ii}}{n - k - 1}}} ; i = 1, 2$$

$H_0$  diterima jika  $t_{hitung} \leq t_{tabel}$   
 $H_0$  ditolak jika  $t_{hitung} > t_{tabel}$

Selanjutnya tahap kedua adalah pengujian untuk melihat pengaruh dari variabel eksogen yaitu persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan ( $Y$ ) terhadap variabel endogen yaitu kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur ( $Z$ ), seperti yang dinyatakan dalam persamaan sebagai berikut:

$$Z = P_{ZY} + P_{Z\varepsilon} \text{ (Persamaan 2)}$$

Dalam keadaan seperti ini koefisien jalur adalah tidak lain dari koefisien korelasi atau  $P_{ZY} = r_{ZY}$ , dimana:

$$P_{ZY} = \frac{n \sum_{h=1}^n Y_h Z_h - \sum_{h=1}^n Y_h \sum_{h=1}^n Z_h}{\sqrt{\left[ n \sum_{h=1}^n Y_h^2 - \left( \sum_{h=1}^n Y_h \right)^2 \right] \left[ n \sum_{h=1}^n Z_h^2 - \left( \sum_{h=1}^n Z_h \right)^2 \right]}}$$

Untuk menguji kebermaknaan  $P_{ZY}$  dengan perumusan hipotesis sebagai berikut:

$H_0 = P_{YX_i} = 0$  (tidak terdapat pengaruh)

$H_1 = P_{YX_i} \neq 0$  (terdapat pengaruh)

Statistik uji yang digunakan adalah:

$$t = \frac{P_{ZY}}{\sqrt{\frac{1 - P^2_{ZY}}{n - 2}}}$$

$H_0$  diterima jika  $t_{hitung} \leq t_{tabel}$

$H_0$  ditolak jika  $t_{hitung} > t_{tabel}$

Sedangkan pengaruh variabel lain terhadap  $Z$  di luar  $Y$  dapat dihitung dengan rumus:

$$P_{Z\varepsilon} = \sqrt{1 - P^2_{ZY}}$$

Yang terakhir yaitu tahap ketiga adalah pengujian untuk melihat perbedaan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan ( $Y$ ) berdasarkan tipe keperibadian kepala keluarga tersebut ( $X_3$ ) dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Oleh karena hasil jawaban responden mengenai tipe kepribadian berbentuk skala nominal dan jenis kepribadian ada 9 jenis (lebih dari 2 sampel independen), maka pengujian yang paling tepat dilakukan disini adalah uji beda dengan menggunakan statistik non-parametrik yaitu uji kruskal wallis atau uji k sampel independen dimana jumlah  $k$  lebih dari 2, dengan rumus sebagai berikut:

$$T = \sum_{j=1}^c \frac{(O_j - E_j)^2}{E_j}$$

dimana :  $E_j = \rho_i * N$ ,  $j = 1, 2, \dots, c$

Kriteria uji adalah sebagai berikut: tolak  $H_0$

jika  $\chi^2_{hitung} > \chi^2_{tabel} (0.05 : 8)$  atau sebaliknya

terima  $H_0$  jika  $\chi^2_{hitung} < \chi^2_{tabel} (0.05 : 8)$ .

## HASIL PENELITIAN

Dari akumulasi distribusi tanggapan responden terhadap butir-butir pernyataan pada variabel pembelajaran memberikan gambaran bahwa paling banyak kepala keluarga pasien (pelanggan di Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat) sudah mendapatkan pembelajaran dalam kategori sangat baik sebesar 66,53% disusul cukup baik 12,42%.

Tabel 2. Distribusi Tanggapan Responden Terhadap Indikator-Indikator Pembelajaran

Pembelajaran	Rekapitulasi Skor Tanggapan Responden										Jumlah	
	5		4		3		2		1			
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
Pernyataan 1	90	94,74	0	0,00	0	0,00	5	5,26	0	0,00	95	100
Pernyataan 2	19	20,00	14	14,74	38	40,00	9	9,47	15	15,79	95	100
Pernyataan 3	23	24,21	6	6,32	21	22,11	24	25,26	21	22,11	95	100
Pernyataan 4	89	93,68	1	1,05	0	0,00	5	5,26	0	0,00	95	100
Pernyataan 5	95	100,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	95	100
Total	316	66,53	21	4,42	59	12,42	43	9,05	36	7,58	475	100

Motivasi kepala keluarga pasien (pelanggan di Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat) tergolong masih rendah, hal ini terlihat dari rata-rata skor motivasi dari kepala keluarga yang lebih mendekati ke angka nol dari pada keangka satu.

Tabel 3. Rata-rata Skor Motivasi Kepala Keluarga

Motivasi	Minimum	Maximum	Range	Rata-rata	std.Deviasi
	0,0868	0,7396	0,6528	0,3780	0,1682

Dari akumulasi distribusi tanggapan responden terhadap butir-butir pernyataan pada variabel persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan memberikan gambaran bahwa paling banyak kepala keluarga pasien (pelanggan di Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat) memiliki persepsi termasuk katagori baik sebesar 40,43%, disusul kemudian persepsi yang termasuk katagori cukup baik sebesar 32,51%. Dari gambaran ini memberikan indikasi bahwa populasi penelitian yaitu kepala keluarga secara umum memiliki persepsi cukup baik.

Dalam tabel 4 terdapat 17 pertanyaan yang digunakan untuk mengukur persepsi kepala

keluarga mengenai kekambuhan dengan distibusi sebagai berikut: pertanyaan 1 s.d 3 merupakan indikator untuk mengukur tentang keadilan (*equality*), pertanyaan 4 s.d 9 merupakan indikator untuk mengukur kepastian penanganan (*certainty*), pertanyaan 10 s.d 13 merupakan indikator untuk mengukur tentang ketepatan saat penanganan (*convenience of treatment*) dan pertanyaan 14 s.d 17 merupakan indikator untuk mengukur tentang biaya (*economic*) dimana jawaban responden berkisar antara skor 5 yang menunjukkan persepsi yang sangat baik sampai dengan skor 1 yang menunjukkan persepsi yang sangat tidak baik.

Tabel 4. Distribusi Tanggapan Responden Terhadap Indikator-Indikator Persepsi Kepala Keluarga Mengenai Kekambuhan

Persepsi Tentang Kekambuhan	Rekapitulasi Skor Tanggapan Responden										Jumlah	
	5		4		3		2		1			
	f	%	f	%	F	%	f	%	f	%	f	%
Pernyataan 1	6	6,32	53	55,79	9	9,47	20	21,05	7	7,37	95	100
Pernyataan 2	2	2,11	51	53,68	33	34,74	9	9,47	0	0,00	95	100
Pernyataan 3	0	00,00	8	8,42	15	15,79	44	46,32	28	29,47	95	100
Pernyataan 4	0	00,00	7	7,37	64	67,37	13	13,68	11	11,58	95	100
Pernyataan 5	1	1,05	72	75,79	5	5,26	17	17,89	0	0,00	95	100
Pernyataan 6	1	1,05	56	58,95	18	18,95	12	12,63	8	8,42	95	100
Pernyataan 7	0	00,00	3	3,16	68	71,58	8	8,42	16	16,84	95	100
Pernyataan 8	0	00,00	12	12,63	83	87,37	0	0,00	0	0,00	95	100
Pernyataan 9	0	00,00	20	21,05	72	75,79	3	3,16	0	0,00	95	100
Pernyataan 10	24	25,26	69	72,63	0	0,00	0	0,00	2	2,11	95	100
Pernyataan 11	15	15,79	80	84,21	0	0,00	0	0,00	0	0,00	95	100
Pernyataan 12	57	60,00	29	30,53	8	8,42	0	0,00	1	1,05	95	100
Pernyataan 13	13	13,68	82	86,32	0	0,00	0	0,00	0	0,00	95	100
Pernyataan 14	1	1,05	31	32,63	45	47,37	6	6,32	12	12,63	95	100
Pernyataan 15	0	0,00	24	25,26	53	55,79	6	6,32	12	12,63	95	100
Pernyataan 16	1	1,05	47	49,47	41	43,16	0	0,00	6	6,32	95	100
Pernyataan 17	0	0,00	11	9,47	11	11,58	45	47,37	30	31,58	95	100
Total	121	7,49	653	40,43	525	32,51	183	11,33	133	8,24	1615	100

Berikut ini adalah tabel yang menggambarkan tanggapan responden terhadap indikator-indikator kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur:

Tabel 5. Distribusi Tanggapan Responden Terhadap Indikator Kepatuhan Pasien Gangguan Jiwa Berat Meminum Obat Secara Teratur

Kepatuhan Pasien minum obat teratur	Rekapitulasi Skor Tanggapan Responden										Jumlah	
	5		4		3		2		1			
	f	%	f	%	F	%	f	%	f	%	f	%
Pernyataan 1	39	41,05	35	36,84	21	22,11	0	0,00	7	7,37	95	100
Pernyataan 2	34	35,79	7	7,37	51	53,68	3	3,16	0	0,00	95	100
Pernyataan 3	95	100,0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	28	29,47	95	100
Pernyataan 4	36	37,89	7	7,37	39	41,05	13	13,68	11	11,58	95	100
Pernyataan 5	74	77,89	21	22,11	0	0,00	0	0,00	0	0,00	95	100
Pernyataan 6	70	73,68	20	21,05	5	5,26	0	0,00	8	8,42	95	100
Pernyataan 7	20	21,05	33	34,74	41	43,16	1	1,05	16	16,84	95	100
Pernyataan 8	53	55,79	42	44,21	0	0,00	0	0,00	0	0,00	95	100
Total	421	55,39	165	21,71	157	20,66	17	2,24	0	0,00	760	100

Dari akumulasi distribusi tanggapan responden terhadap butir-butir pernyataan pada variabel kepatuhan pasien gangguan jiwa berat (pelanggan di Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat) yang menjadi sampel penelitian paling banyak memiliki kepatuhan yang termasuk dalam katagori sangat tinggi (55,39%), disusul kemudian kepatuhan yang termasuk katagori tinggi (21,71%).

Selanjutnya akan dilihat bagaimana pengaruh dari persepsi kepala keluarga tersebut mengenai kekambuhan terhadap kepatuhan

pasien gangguan jiwa berat meminum obat secara teratur. Pada bagian ini akan diuji pengaruh dari pembelajaran dan motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dan dampaknya terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat terhadap kepatuhan meminum obat secara teratur. Dari data-data keempat variabel yang telah diperoleh, untuk memudahkan perhitungan terlebih dahulu di hitung koefisien korelasi antar variabel dan disusun dalam bentuk sebuah matriks korelasi sebagai berikut:

$$R = \begin{vmatrix} & X1 & X2 & Y & Z \\ X1 & 1,0000 & 0,3527 & 0,5452 & 0,2851 \\ X2 & 0,3527 & 1,0000 & 0,5385 & 0,2837 \\ Y & 0,5452 & 0,5385 & 1,0000 & 0,6078 \\ Z & 0,2851 & 0,2837 & 0,6078 & 1,0000 \end{vmatrix}$$

Koefisien korelasi tersebut dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

1. Keeratan hubungan antara pembelajaran dengan motivasi adalah sebesar 0,3527 dengan arah hubungan yang positif, artinya semakin baik pembelajaran juga diikuti dengan peningkatan dalam motivasi.
2. Keeratan hubungan antara pembelajaran dengan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah sebesar 0,5452 dengan arah hubungan yang positif, artinya semakin baik pembelajaran juga diikuti dengan peningkatan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.
3. Keeratan hubungan antara motivasi dengan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah sebesar 0,5385 dengan arah hubungan yang positif, artinya setiap peningkatan dalam motivasi diikuti dengan peningkatan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.
4. Keeratan hubungan antara persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dengan kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam minum obat secara teratur adalah sebesar 0,6078 dengan arah hubungan yang positif, artinya setiap peningkatan dalam persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan diikuti dengan peningkatan kepatuhan pasien gangguan jiwa berat minum obat secara teratur.

Pengaruh pembelajaran dan motivasi sebagai variabel sebab terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan sebagai variabel akibat merupakan sub struktur pertama dari paradigma penelitian yang dapat dihitung dengan menggunakan analisis jalur

(*path analysis*) dengan hipotesis sebagai berikut:

1.  $H_0 : \rho_{YX_i} = 0$  Faktor pembelajaran dan motivasi secara simultan tidak berpengaruh terhadap  $i = 1,2$  persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.  
 $H_1 : \rho_{YX_i} \neq 0$  Faktor pembelajaran dan motivasi secara simultan berpengaruh terhadap  $i = 1,2$  persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.
2.  $H_0 : \rho_{YX_1} = 0$  Faktor pembelajaran tidak berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.  
 $H_1 : \rho_{YX_1} \neq 0$  Faktor pembelajaran berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.
3.  $H_0 : \rho_{YX_2} = 0$  Faktor motivasi tidak berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.  
 $H_1 : \rho_{YX_2} \neq 0$  Faktor motivasi berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan

Untuk menguji ketiga hipotesis diatas, terlebih dahulu dihitung koefisien jalur dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Susun matriks korelasi antara variabel sebab dalam penelitian ini yang menjadi variabel sebab adalah pembelajaran (X1) dan motivasi (X2).

$$R = \begin{vmatrix} & X1 & X2 \\ X & 1,0000 & 0,3527 \\ X2 & 0,3527 & 1,0000 \end{vmatrix}$$

2. Hitung invers dari matriks korelasi antar variabel sebab tersebut.

$$R^{-1} = \begin{vmatrix} & X1 & X2 \\ X1 & 1,1420 & -0,4028 \\ X2 & 0,4028 & 1,1420 \end{vmatrix}$$

3. Susun matriks korelasi variabel sebab dengan variabel akibat

$$R = \begin{matrix} & Y \\ \begin{matrix} X1 \\ X2 \end{matrix} & \begin{pmatrix} 0,5452 \\ 0,5385 \end{pmatrix} \end{matrix}$$

4. Untuk memperoleh koefisien jalur, kalikan invers dari matriks korelasi antar variabel sebab terhadap matriks korelasi variabel sebab dengan variabel akibat.

$$\begin{pmatrix} PYX1 \\ PYX2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1,1420 & -0,4028 \\ 0,4028 & 1,142 \end{pmatrix}^{-1} \times \begin{pmatrix} 0,5452 \\ 0,5385 \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} PYX1 \\ PYX2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0,4057 \\ 0,3955 \end{pmatrix}$$

Setelah koefisien jalur diperoleh, maka dapat ditentukan besarnya pengaruh pembelajaran dan motivasi secara simultan terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan yang juga disebut dengan koefisien determinasi. Koefisien determinasi didapat dari hasil perkalian koefisien jalur terhadap matriks korelasi antara variabel sebab dengan variabel akibat.

$$R^2_{Y(X1X2)} = \begin{pmatrix} 0,4057 & 0,3955 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} 0,5452 \\ 0,5385 \end{pmatrix}$$

$$= 0,4342$$

Nilai koefisien determinasi dapat diinterpretasikan sebagai pengaruh variabel sebab terhadap variabel akibat. Jadi dalam penelitian ini 43,42% persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dipengaruhi oleh faktor pembelajaran dan motivasi, sedangkan sisanya yang 56,58% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak termasuk dalam penelitian ini.

$$PY\epsilon = \sqrt{1 - 0,4342}$$

$$= 0,7522$$

Artinya besar koefisien jalur untuk faktor lain yang tidak termasuk dalam penelitian ini adalah 0,7522.

Untuk menguji apakah faktor pembelajaran dan motivasi berpengaruh secara simultan terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan diuji melalui uji F, dimana

$F_{hitung}$  dapat dihitung melalui formula berikut:

$$F = \frac{(n-k-1) R^2_{YX1 X2}}{k (1-R^2_{YX1 X2})}$$

$$F = \frac{(95-2-1) \times 0,4342}{2 \times (1-0,4342)} = 35,2962$$

Kriteria uji, "Tolak  $H_0$  jika  $F > F_{\alpha} (k; n-k-1)$ ", dimana dari tabel F untuk tingkat signifikansi 0,05 dan derajat bebas (2;95-2-1) diperoleh  $F_{0.05} (2, 92) = 3,0954$ . Karena  $F_{hitung} > T_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak pada tingkat kekeliruan 0,05, jadi berdasarkan pada hasil pengujian maka dapat disimpulkan bahwa dengan tingkat kepercayaan 95% secara bersama-sama (simultan) variabel pembelajaran dan motivasi berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan di lingkungan Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat.

Apabila hasil dari pengujian secara simultan menyimpulkan terdapat pengaruh secara bersama-sama, selanjutnya dilakukan pengujian individual untuk melihat variabel mana saja diantara kedua variabel, yaitu variabel pembelajaran dan motivasi yang berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan. Untuk keperluan ini, koefisien jalur untuk masing-masing variabel diuji melalui uji t, dimana  $t_{hitung}$  dapat dihitung menggunakan formula berikut:



$$t = \frac{PYXi}{\sqrt{\frac{[1 - R^2Y(X1X2X3)]Cii}{n - k - 1}}}$$

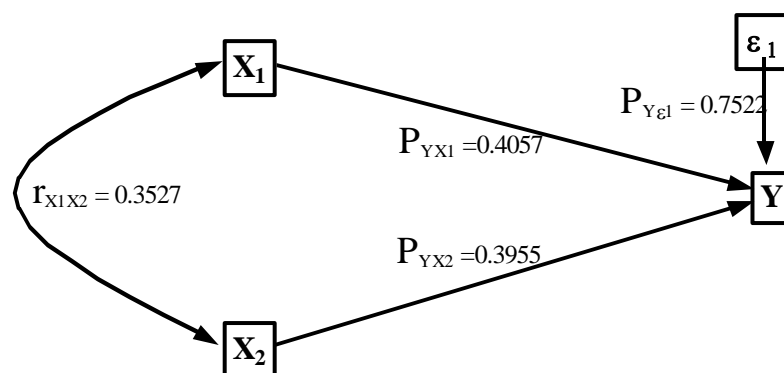
$$t1 = \frac{0,4057}{\sqrt{\frac{(1 - 0,4342) \times 1,1420}{95 - 2 - 1}}} = 4,8410$$

$$t2 = \frac{0,3955}{\sqrt{\frac{(1 - 0,4342) \times 1,1420}{95 - 2 - 1}}} = 4,7186$$

Kriteria uji, tolak  $H_0$  jika « **tolak  $H_0$  jika  $t_{hitung} > t_{tabel}$  atau  $t_{hitung} < \text{negatif } t_{tabel}$**  », dimana nilai  $t_{tabel}$  dapat dilihat dari tabel  $t_{student}$  dengan tingkat signifikansi (0,05) dan derajat bebas (n-k-1). Dari tabel diperoleh nilai  $t_{(0,05/2); 92} = 1,9861$ , karena nilai  $t_{hitung}$  untuk kedua koefisien jalur tersebut lebih besar dari  $t_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak. Jadi dapat disimpulkan bahwa kedua variabel,

yaitu pembelajaran dan motivasi berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dilingkungan Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat.

Setelah dilakukan pengujian terhadap koefisien jalur, maka dapat digambarkan struktur jalur beserta koefisien jalurnya sebagai berikut.



Gambar 3: Diagram jalur dan koefisien jalur pengaruh pembelajaran (X1) dan motivasi (X2) terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan (Y)

Besarnya pengaruh masing-masing variabel eksogenus:

1) Besarnya pengaruh faktor pembelajaran terhadap persepsi kepala keluarga



mengenai kekambuhan adalah sebagai berikut:

- a. Pengaruh langsung faktor pembelajaran terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah:

$$\begin{aligned} (P_{yx1})^2 &= (0,4057) \times (0,4057) \\ &= 0,1646 \text{ (16,46\%)} \end{aligned}$$

- b. Pengaruh tidak langsung faktor pembelajaran terhadap persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan yang melalui hubungannya dengan faktor motivasi adalah:

$$\begin{aligned} &= P_{yx1} \times r_{x1x2} \times P_{yx2} \\ &= (0,4057) \times (0,3527) \times (0,3955) \\ &= 0,0566 \text{ (5,66\%)} \end{aligned}$$

Jadi total pengaruh pembelajaran terhadap persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan  
 $= 16,46\% + 5,66\% = 22,12\%$  dengan arah yang positif, dimana semakin baik pembelajaran akan mengakibatkan makin baik persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan.

- 2) Besarnya pengaruh motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah sebagai berikut:

- a. Pengaruh langsung faktor motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan

$$\begin{aligned} (P_{yx2})^2 &= (0,3955) \times (0,3955) \\ &= 0,1564 \text{ (15,64\%)} \end{aligned}$$

- b. Pengaruh tidak langsung faktor motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan yang melalui faktor pembelajaran adalah:

$$\begin{aligned} &= P_{yx2} \times r_{x1x2} \times P_{yx1} \\ &= (0,3955) \times (0,3527) \times (0,4057) \\ &= 0,0566 \text{ (5,66\%)} \end{aligned}$$

Jadi total pengaruh motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan

$= 15,64\% + 5,66\% = 21,30\%$  dengan arah yang positif, dimana semakin tingginya motivasi mengakibatkan semakin baik persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan.

Adapun pengaruh persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur merupakan sub struktural kedua dari para digma penelitian dengan hipotesis sebagai berikut

Ho:  $\rho_{ZY} = 0$  Persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan tidak berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat meminum obat secara teratur.

H1:  $\rho_{ZY} \neq 0$  Persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat meminum obat secara teratur.

Karena variabel eksogen (penyebab) hanya satu buah, jadi koefisien korelasi sekaligus menjadi koefisien jalur.

Koefisien jalur Z terhadap Y  
 $(PZY) = r_{ZY} = (0,6078)$

Koefisien Determinasi:

$$\begin{aligned} R^2_{Z(Y)} &= (r_{ZY})^2 = (0,6078)^2 \\ &= 0,3694 \end{aligned}$$

Nilai koefisien determinasi dapat diinterpretasikan sebagai pengaruh variabel sebab terhadap variabel akibat. Jadi dalam penelitian ini 36,94% kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur dipengaruhi oleh persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan pasien, sedangkan sisanya 63,06 % dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diteliti dalam penelitian ini.

$$\begin{aligned} PZ\epsilon &= \sqrt{1 - 0,3694} \\ &= 0,7941 \end{aligned}$$

artinya besarnya koefisien jalur untuk faktor lain yang tidak diteliti dalam penelitian ini adalah 0.7941

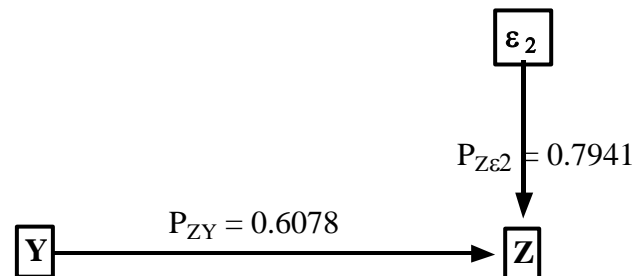
Untuk menguji apakah secara statistik persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur diuji menggunakan statisti uji t, dimana  $t_{hitung}$  dapat dihitung melalui formula berikut:

$$t = \frac{P_{ZY}}{\sqrt{\frac{1 - P^2_{ZY}}{n - 2}}}$$

$$t = \frac{0,6078}{\sqrt{\frac{(1 - 0,3694)}{95 - 2}}} = 7,3805$$

Kriteria uji, tolak  $H_0$  jika « **tolak  $H_0$  jika  $t_{hitung} > t_{tabel}$  atau  $t_{hitung} < \text{negatif}$**   $t_{tabel}$  », dimana dari tabel t untuk tingkat

signifikansi (0,05) dan derajat bebas (95-2) diperoleh  $t_{(0,05/2; 93)} = 1,9858$ . Karena nilai  $t_{hitung} > t_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak pada tingkat kekeliruan 0,05. Jadi berdasarkan pada hasil pengujian secara statistik dapat disimpulkan bahwadengan tingkat kepercayaan 95%, persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur



Gambar 4. Diagram jalur beserta koefisien jalur pengaruh persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur

Untuk melihat apakah terdapat perbedaan persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian, dilakukan pengujian dengan menggunakan uji k sampel independen. Oleh karena hasil jawaban reseponden mengenai tipe kepribadian berbentuk skala nominal, maka

pengujian yang mungkin untuk dilakukan disini adalah uji beda dengan menggunakan statistik non-parametrik. Data yang diolah adalah total skor persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan. Ringkasan data yang diperoleh mengenai persepsi kepala keluarga adalah sebagai berikut:

Tabel 6. Rata-rata ranking skor persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan Ranks

	Personality	N	Mean Rank
Persepsi Kekambuhan	ENFJ	5	3,50
	ESFJ	11	48,77
	ESTJ	38	46,04
	ESTP	3	39,83
	INFJ	4	51,50
	INTJ	6	41,75
	INTP	8	72,31
	ISTJ	11	45,18
	ISTP	9	67,22
Total		95	

Dari tabel di atas terlihat bahwa kepala keluarga dengan tipe kepribadian INTP (*Introvert Intuiting Thinking Perceiving*) yaitu tipe orang yang konseptual /teoritis (*most conceptual*) memiliki persepsi yang paling baik tentang kekambuhan., hal ini ditunjukkan oleh nilai rata-rata ranking skor persepsi dengan tipe kepribadian INTP merupakan nilai yang paling tinggi. Kemudian kepribadian dengan tipe ENFJ (*Extrovert Intuiting Feeling Judging*) yaitu tipe orang yang berkharisma (*most persuasive*) memiliki persepsi yang paling buruk mengenai kekambuhan.

Hasil pengujian secara statistik juga membuktikan bahwa memang terdapat perbedaan persepsi yang signifikan mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian dari kepala keluarga tersebut, dimana dari hasil pengujian dengan menggunakan uji Kruskal Wallis diperoleh nilai sebagai berikut:

$$\chi^2_{hitung} = 25,102 > \chi^2_{(0,05 : 8)} = 15,507$$

atau nilai  $p < 0,05$

TABEL 7. Uji perbedaan skor persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian

**Test Statistics (a.b)**

	Persepsi Tentang Kekambuhan
Chi-Square	25,102
df	8
Asymp.Sig	0,001

**a.** Kruskal Wallis Test

**b.** Grouping Variable Personality

## DISKUSI

Dalam pengujian validitas dengan menggunakan Koefisien Korelasi Rank-Spearman, sebuah item pertanyaan dapat dinyatakan valid apabila nilai koefisien korelasinya lebih besar atau sama dengan **0,30** ; demikian pula dengan koefisien korelasi Pearson. Pengujian validitas terhadap semua variabel kecuali variabel kepribadian menggunakan korelasi Rank Spearman dimana data yang diolah merupakan data dengan skala ordinal maupun rasio.

Sedangkan pengujian untuk variabel kepribadian menggunakan korelasi Pearson dimana data yang diolah menggunakan data dengan skala nominal.

Hasil pengujian validitas terhadap seluruh variabel penelitian menunjukkan hasil berupa koefisien korelasi diatas nilai 0,30. Dengan kata lain semua pertanyaan dari setiap variabel penelitian adalah valid seperti yang terlihat dalam tabel dibawah ini:

**VARIABEL PEMBELAJARAN (X1)**

<b>Nomor Pertanyaan</b>	<b>Koefisien Korelasi Spearman</b>	<b>Keterangan</b>
Pertanyaan 1	0,540	Valid
Pertanyaan 2	0,662	Valid
Pertanyaan 3	0,884	Valid
Pertanyaan 4	0,540	Valid
Pertanyaan 5	0,540	Valid

**VARIABEL MOTIVASI(X2)**

<b>Nomor Pertanyaan</b>	<b>Koefisien Korelasi Pearson</b>	<b>Keterangan</b>
Pertanyaan A.1	0,799	Valid
Pertanyaan A.2	0,865	Valid
Pertanyaan A.3	0,488	Valid
Pertanyaan A.4	0,803	Valid
Pertanyaan A.5	0,750	Valid
Pertanyaan A.6	0,620	Valid
Pertanyaan B.1	0,641	Valid
Pertanyaan B.2	0,891	Valid
Pertanyaan B.3	0,936	Valid
Pertanyaan B.4	0,945	Valid
Pertanyaan B.5	0,867	Valid
Pertanyaan B.6	0,712	Valid
Pertanyaan C.1	0,876	Valid
Pertanyaan C.2	0,864	Valid
Pertanyaan C.3	0,897	Valid

**VARIABEL KEPERIBADIAN(X3)**

<b>Nomor Pertanyaan</b>	<b>Koefisien Korelasi Spearman</b>	<b>Keterangan</b>
Pertanyaan 1	0,5509	Valid
Pertanyaan 2	0,5800	Valid
Pertanyaan 3	0,5466	Valid
Pertanyaan 4	0,4038	Valid
Pertanyaan 5	0,4596	Valid
Pertanyaan 6	0,4666	Valid
Pertanyaan 7	0,4281	Valid
Pertanyaan 8	0,5096	Valid
Pertanyaan 9	0,3397	Valid
Pertanyaan 10	0,3897	Valid
Pertanyaan 11	0,5096	Valid
Pertanyaan 12	0,3897	Valid

### VARIABEL PERSEPSI (Y)

Nomor Pertanyaan	Koefisien Korelasi Spearman	Keterangan
Pertanyaan 1	0,383	Valid
Pertanyaan 2	0,573	Valid
Pertanyaan 3	0,747	Valid
Pertanyaan 4	0,574	Valid
Pertanyaan 5	0,397	Valid
Pertanyaan 6	0,728	Valid
Pertanyaan 7	0,446	Valid
Pertanyaan 8	0,414	Valid
Pertanyaan 9	0,671	Valid
Pertanyaan 10	0,430	Valid
Pertanyaan 11	0,328	Valid
Pertanyaan 12	0,376	Valid
Pertanyaan 13	0,551	Valid
Pertanyaan 14	0,506	Valid
Pertanyaan 15	0,543	Valid
Pertanyaan 16	0,301	Valid
Pertanyaan 17	0,353	Valid

### VARIABEL KEPATUHAN (Z)

Nomor Pertanyaan	Koefisien Korelasi Spearman	Keterangan
Pertanyaan 1	0,5509	Valid
Pertanyaan 2	0,5800	Valid
Pertanyaan 3	0,5466	Valid
Pertanyaan 4	0,4038	Valid
Pertanyaan 5	0,4596	Valid
Pertanyaan 6	0,4666	Valid
Pertanyaan 7	0,4281	Valid
Pertanyaan 8	0,5096	Valid

Setelah semua variabel penelitian memenuhi uji validitas (valid), maka langkah selanjutnya adalah melakukan pengujian reliabilitas dan diperoleh hasil sebagai berikut:

- Koefisien *alpha cronbach* untuk variabel pembelajaran = 0,8436
- Koefisien *alpha cronbach* untuk variabel motivasi = 0,9610
- Koefisien *alpha cronbach* untuk variabel kepribadian = 0,7141
- Koefisien *alpha cronbach* untuk variabel persepsi = 0,8252

- Koefisien *alpha cronbach* untuk variabel kepatuhan = 0,8487

Hasil pengujian reliabilitas terhadap seluruh variabel penelitian menunjukkan hasil berupa koefisien *alpha cronbach* diatas **0,70**. Dengan kata lain semua pertanyaan dari setiap variabel penelitian adalah reliabel atau dapat dipercaya.

Setelah semua data penelitian memenuhi uji validitas maupun reliabilitas maka data tersebut dapat diolah lebih lanjut. Hasil pengolahan data secara statistik memperlihatkan hal-hal sebagai berikut:

- Dari hasil uji t dengan tingkat signifikansi sebesar 5% diperoleh hasil bahwa faktor pembelajaran secara individual berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dengan keeratan hubungan antara kedua faktor tersebut sebesar 0,5452 dengan arah hubungan positif artinya semakin baik pembelajaran akan diikuti oleh peningkatan persepsi pasien gangguan jiwa berat mengenai kepatuhan minum obat secara teratur lebih baik/positif. Adapun besarnya pengaruh langsung dari faktor pembelajaran terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan sebesar 16,46%, sedangkan pengaruh tidak langsung dari faktor pembelajaran terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan melalui faktor motivasi sebesar 5,66% sehingga total pengaruh sebesar 22,12%.
  - Dari hasil pengujian terhadap rata-rata skor motivasi kepala keluarga memperlihatkan bahwa rata-rata motivasi dari kepala keluarga masih tergolong rendah hal ini terlihat dari rata-rata skor motivasi kepala keluarga yang lebih mendekati ke angka nol daripada satu yaitu sebesar 0,3780. Sedangkan dari hasil uji t dengan tingkat signifikansi sebesar 5% diperoleh hasil bahwa faktor motivasi secara individual berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dengan keeratan hubungan antara kedua faktor tersebut sebesar 0,5385 dengan arah hubungan positif artinya semakin baik motivasi akan diikuti oleh peningkatan persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan ke arah yang lebih baik/positif. Adapun besarnya pengaruh langsung dari faktor motivasi terhadap persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan sebesar 15,64% sedangkan pengaruh tidak langsung dari faktor motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan melalui faktor pembelajaran sebesar 5,66% sehingga total pengaruh sebesar 21,30%.
  - Dari hasil uji F dengan tingkat signifikansi sebesar 5% diperoleh hasil bahwa faktor pembelajaran dan motivasi secara serempak /simultan berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan. Adapun besarnya pengaruh dari faktor pembelajaran dan motivasi terhadap persepsi kepala keluarga tentang kekambuhan sebesar 43,42%.
  - Dari hasil uji beda kruskal wallis diperoleh hasil  $\chi^2_{hitung} > \chi^2_{(0,05 : 8)}$  (tabel) yaitu  $25,102 > 15,507$ , artinya terdapat perbedaan persepsi yang signifikan mengenai kekambuhan diantara kepala keluarga berdasarkan tipe kepribadian dari kepala keluarga tersebut. Dengan kata lain perbedaan dalam tipe kepribadian mengakibatkan adanya perbedaan persepsi mengenai kekambuhan dari masing-masing kepala keluarga.
- Yang terakhir adalah hasil pengujian statistik terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dan kepatuhan pasien gangguan jiwa berat diperoleh hasil berupa koefisien determinasi sebesar 0,3694 atau dengan kata lain kepatuhan pasien gangguan jiwa berat dalam minum obat secara teratur dipengaruhi oleh persepsi dari kepala keluarga tersebut mengenai kekambuhan sebesar 36,94% sisanya 63,06% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diteliti dalam penelitian ini.

## KESIMPULAN

Hasil pengujian terhadap variabel-variabel penelitian membuktikan bahwa dengan tingkat kepercayaan sebesar 95% faktor pembelajaran dan motivasi baik secara

individual maupun secara bersama-sama berpengaruh terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan dimana adanya peningkatan dari faktor pembelajaran maupun motivasi dari kepala keluarga akan diikuti oleh peningkatan persepsi dari kepala keluarga tersebut mengenai kekambuhan (kearah yang positif) sekalipun besarnya pengaruh tersebut tidak terlalu dominan. Adapun besarnya pengaruh dari faktor pembelajaran secara parsial/individu terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah sebesar 22,12% dan pengaruh dari faktor motivasi terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah sebesar 21,30%. Sedangkan besarnya pengaruh dari faktor pembelajaran dan motivasi secara simultan/serempak terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan adalah 43,42%.

Demikian pula halnya dengan persepsi dari kepala keluarga mengenai kekambuhan berpengaruh terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat meminum obat secara teratur, sekalipun besarnya pengaruh tersebut tidak terlalu dominan. Adapun besarnya pengaruh dari persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan terhadap kepatuhan pasien gangguan jiwa berat meminum obat secara teratur adalah sebesar 36,94%.

Hasil pengujian terhadap persepsi kepala keluarga mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian dengan menggunakan uji *kruskal wallis* membuktikan bahwa terdapat perbedaan persepsi yang signifikan mengenai kekambuhan berdasarkan tipe kepribadian, dimana kepala keluarga dengan tipe kepribadian INTP (*Introvert Intuiting*

*Thinking Perceiving*) atau tipe orang yang konseptual /teoritis (*most conceptual*) memiliki persepsi yang paling baik/positif mengenai kekambuhan, hal ini ditunjukkan oleh nilai rata-rata ranking skor persepsi dengan tipe kepribadian INTP merupakan nilai yang paling tinggi. Sebaliknya kepribadian dengan tipe ENFJ (*Extrovert Intuiting Feeling Judging*) atau tipe orang yang berkharisma (*most persuasive*) memiliki persepsi yang paling buruk mengenai kekambuhan. Selain itu tipe kepribadian dari kepala keluarga paling banyak adalah tipe ESTJ (*Extrovert Sensing Thinking Judging*) yaitu tipe orang terstruktur atau penuh perencanaan.

Berdasarkan hasil analisa statistik seperti yang tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa rendahnya tingkat kepatuhan dari pasien gangguan jiwa berat dalam meminum obat secara teratur (pelanggan Rumah Sakit Jiwa Prov. Jawa Barat) antara lain dipengaruhi oleh persepsi dari kepala keluarga pasien tersebut mengenai kekambuhan dimana persepsi itu sendiri dipengaruhi oleh karakteristik pribadi (faktor internal) dari kepala keluarga tersebut yang meliputi faktor pembelajaran dan motivasi. Dengan kata lain semakin baik tingkat pembelajaran dari kepala keluarga serta semakin tinggi motivasi kepala keluarga tersebut akan semakin baik (positif) pula persepsi dari pasien gangguan jiwa berat tersebut terhadap kepatuhan meminum obat secara teratur. Faktor-faktor lain juga mempengaruhi terutama faktor eksternal (tidak diteliti dalam penelitian ini) seperti lingkungan, kualitas pelayanan dari rumah sakit, mental kepala keluarga atau petugas rumah sakit.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Gibson., Ivancevich., Donnelly. *Organizations: Behavior-Structure-Processes*. Richard D. Irwin Inc, 9<sup>th</sup> edition. 1997.p:144.
2. Kaplan, Robert M., and Saccuza, Dennis P. *Psychological Testing (Principles, Application and Issues)*. Cole Publishing Company, California., 3<sup>rd</sup> edition. 1993 p:126

3. Luthans Fred. *Organizational Behavior*. Mc. Graw-Hill Higher Education., 9th.2002. p:62.
4. Lehman Anthony F., et al (work group on schizophrenia). *Practice Guideline for the Treatment of Patients with Schizophrenia*., second edition. American Psychiatric Association Practice Guidelines. February 2004. p: 1-112.
5. Pareek Udai. *Perilaku Organisasi, Seri Manajemen No.98*. Pustaka Binaman Pressindo. 1991.p:14.
6. Sanders., Donald and Smidt., Robert. *Statistics: A First Course*. sixth edition. Mc.Graw-Hill US.
7. Saifuddin Azwar. *Reliabilitas dan Validitas*. Pustaka Pelajar, Edisi ke-3. 1997 p:158
8. Singarimbun Masri, Efendi Sofyan Efendi, Djamaluddin A. *Metoda Penelitian Survei*. LP3ES., 1995. Jakarta.
9. Sidharta Budiarto. *Pemakaian risperidone untuk mengobati penderita schizophrenia*. Makalah Ilmiah disampaikan pada temu keluarga pasien RSJ Cimahi. Oktober 2000.
10. Sitepu Nirwana S.K. *Analisis Jalur (Path Analysis)*. Diterbitkan Atas Usaha Unit Pelayanan Statistika Jurusan Statistik FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung., thn 1994.
11. Supranto J. *Statistik: Teori dan Aplikasi* edisi keenam. Penerbit Erlangga, tahun 2001., Jakarta.



## PENGEMBANGAN METODE PCR DAN *SOUTHERN HYBRIDIZATION* UNTUK DETEKSI GEN BABI PADA CANGKANG KAPSUL

Marlina<sup>1</sup>, Mutalib, S. A<sup>2</sup>, Islami, S. N<sup>1</sup>, Sari, H. K<sup>1</sup>, Fitria, A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia, 25162

<sup>2</sup>Fakultas Sains dan Teknologi,

Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, Malaysia, 43600

### ABSTRAK

*Pada penelitian ini telah diidentifikasi sebanyak lima jenis cangkang kapsul keras dan tiga jenis cangkang kapsul lunak. Isolasi DNA kapsul menggunakan kit Qiagen DNeasy Blood and Tissue dan diamplifikasi menggunakan mesin PCR. Hasil dari amplifikasi PCR ini kemudian dielektroforesis dan dilanjutkan DENGAN identifikasi dengan metode Southern hybridization yang menggunakan kit Olipro®. Penggunaan kit Olipro® pada metode Southern hybridization ini bertujuan untuk memperjelas hasil amplifikasi PCR karena sampel yang digunakan merupakan bahan yang terproses tinggi sehingga kemungkinan DNA yang berada didalamnya sudah rusak. Setelah dilakukan pengujian menggunakan elektroforesis dan kit Olipro didapatkan hasil yang negatif pada semua sampel terhadap gen babi.*

**Kata kunci:** Cangkang kapsul, kit Qiagen, PCR, Southern hybridization, kit Olipro.

### PENDAHULUAN

Kapsul adalah salah satu produk farmasi yang terbuat dari gelatin sapi dan gelatin babi, merupakan bahan yang sangat penting dalam mengemas sediaan obat (Sahilah, 2012). Kapsul yang berasal dari gelatin babi memiliki harga yang jauh lebih murah dibanding gelatin yang berasal dari sapi. Hal ini yang menyebabkan banyak produsen yang memilih cangkang kapsul yang terbuat dari gelatin babi daripada cangkang yang terbuat dari gelatin sapi (Gadri & Priani, 2012). Gelatin adalah produk alami yang diperoleh dari hidrolisis parsial kolagen. Gelatin terbuat dari bahan yang kaya akan kolagen seperti kulit dan tulang babi atau sapi (Junianto, *et al.*, 2006; Martianingsih & Atmajaya, 2010; Cai, *et al.*, 2011). Saat ini penggunaan gelatin sudah semakin luas untuk produk makanan, farmasi dan kosmetik. Hal ini disebabkan gelatin memiliki sifat sebagai bahan pembentuk gel, pengental, pengemulsi, penstabil dan pengikat. Penggunaan gelatin ini sangat luas sehingga kesempatan untuk penggunaan

kapsul gelatin yang tidak halal juga sangat luas (Wiyono, 2001; Sahilah, *et al.*, 2012).

Oleh karena itu, identifikasi kandungan DNA babi pada makanan atau produk farmasi sangat penting dilakukan. Identifikasi ini biasanya dilakukan dengan *real time* PCR (Cai, 2012), kemometrik dan profil asam amino, PCR-RFLP (Lin, *et al.*, 2005), dan amplifikasi segmen *cytochrome b* menggunakan PCR (Sahilah, *et al.*, 2012; Primasari, 2011). Pada penelitian ini digunakan metode amplifikasi *cytochrome b* menggunakan PCR.

*Cytochrome b* (cyt b) adalah salah satu bagian dari sitokrom yang terlibat dalam transportasi elektron dalam mitokondria. Gen sitokrom b dikodekan oleh DNA mitokondria. Sitokrom b dapat digunakan untuk membedakan jenis hewan berdasarkan urutan dan panjang basa (Dewi, 2011; Hapsari & Misrianti, 2007).

PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Teknik ini memiliki beberapa keunggulan,

salah satunya adalah dapat mendeteksi sampel dalam keadaan mentah maupun sudah mengalami proses pengolahan seperti kapsul (Handoyo & Rudiretna, 2001; Primasari, 2011).

Southern hybridization adalah proses perpasangan antara DNA sasaran dan DNA pelacak (Suharsono and Widyastuti, 2006). Metode ini digunakan untuk produk yang telah mengalami proses pengolahan yang menyebabkan DNA yang berada didalam produk tersebut menjadi rusak sehingga tidak

jelas hasilnya jika dilihat dengan menggunakan elektroforesis gel (Sahilah, et al., 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya cangkang kapsul yang mengandung gen babi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan *Southern Hybridization*. Cangkang kapsul yang diuji dalam penelitian ini terdiri dari lima cangkang kapsul keras dan tiga cangkang kapsul lunak.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

#### Bahan

PCR (eppendorf®), oven hibridisasi (Olipro Biotechnology®), orbital shaker (Labnet®), tabung (eppendorf®) 1.5 ml, tip eppendorf® (10 µl, 100µl, 1000µl), vortex (Felt®), maestronano spektrofotometer (maestrogen®), sentrifus (eppendorf®), autoklaf (Hirayama®), inkubator (Memmert®), oven (panasonic®), gelas ukur, erlenmeyer, tabung PCR (eppendorf®), *collection tube* (DNeasy® Tissue Kit (QIAGEN®)), QIAamp Spin column (DNeasy® Tissue Kit (QIAGEN®)) tabung mikrosentrifus, alumunium foil, pipet mikro (eppendorf®) 0,1-10 µl ; 10-100 µl ; 100 - 1000 µl, timbangan digital, mesin elektroforesis (Elite 300®), *gel documentation system* (Alpha Imager®), *freezer* (Dairei®), kotak es, parafilm, chip (Olipro Biotechnology®), *beaker glass*, *falcon tube*, kapsul, kontrol positif (DNA babi), kontrol negatif (*Nucleas Free Water*), kit isolasi DNeasy® Tissue (QIAGEN, Hilden, Germany; buffer ATL, buffer AL, proteinase k, buffer AW1, buffer AW2, buffer AE), mastermix PCR Olipro® (primer, dNTP, MgCl<sub>2</sub>, IC, dan buffer), DNA *Taq Polymerase*, aquades, DNA *ladder* 100bp (Pure Extreme®), *loading dye* (Pure Extreme®), etanol 100 %, serbuk agarosa, etidium bromida, *Tris Acetate EDTA* (TAE), kit hibridisasi (Olipro®) dan *DNA removal* (Oligon®).

### Metodologi

#### Isolasi DNA

DNA kapsul diisolasi dengan kit Qiagen. Sebanyak 50 mg kapsul cangkang keras dan lunak dipotong dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml.

#### Amplifikasi PCR

Kualitas dan kuantitas kemurnian DNA diuji menggunakan spektrofotometer maestronano (Maestrogen®). DNA disimpan pada suhu - 20°C sampai akan digunakan untuk amplifikasi PCR.

Proses amplifikasi DNA menggunakan reagen PCR (PCR mastermix 19,6 µl, *Taq DNA polymerase* 0,5 µl , templat DNA 10µl, dan *nucleas free water* 19,9 µl). Volume total dari tiap sampel adalah 50 µl. Kontrol negatif 10 µl *nucleas free water* dan kontrol positif 10 µl DNA babi. Proses amplifikasi dilakukan 47 siklus, denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, pemanjangan pada suhu 72°C selama 30 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit.

Hasil PCR di elektroforesis menggunakan gel agarosa 2,5 % dan buffer TAE 1x pada 100 Volt selama 39 menit setelah proses PCR. 1µl *loading dye* dan 2 µl *ladder* ditambahkan ke dalam sumur agarosa. 5 µl sampel, positif kontrol dan

negatif kontrol ditambahkan dengan 1  $\mu$ l *loading dye*. Larutan ini ditambahkan ke dalam sumur agarosa dan diwarnai dengan 0.5  $\mu$ g/ml etidium bromida selama 5-10 menit. Hasilnya dilihat menggunakan *gel documentation system*. Pemisahan DNA ditentukan dengan ikatan DNA standar seperti DNA ladder 100 bp. Ukuran DNA babi adalah 276 bp.

#### Southern hybridization

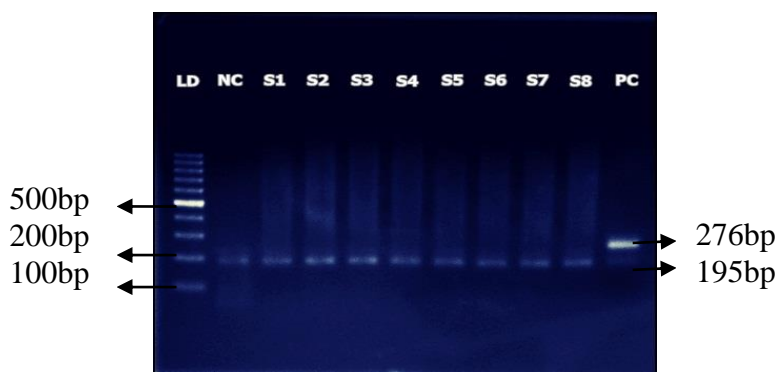
Produk PCR diamplifikasi pada suhu 95°C selama 10 PCR. Proses hibridisasi menggunakan OLIPRO® *Porcine Gene Biochip* (OLIPRO, MY). Reagen yang digunakan adalah kit olipro. Reagen ini

terdiri dari reagen A, B, C, D, E, F dan G. Hasil denaturasi dimasukkan ke dalam chip dan dicampur dengan kit olipro. Hasil southern hybridization dilihat menggunakan *scanner olipro biotechnology*®. OLIPRO® *Porcine Gene Biochip* (OLIPRO, MY) mengandung target pelacak yang spesifik terhadap *cytochrome b*. Hasil yang positif mengindikasikan bahwa sampel mengandung gen babi yang ditunjukkan oleh adanya dua titik vertical di bagian tengah chip. Sebaliknya, untuk hasil negatif tidak ada dua titik di bagian tengah chip. Kalau terdapat titik pada bagian internal control mengindikasikan bahwa proses PCR dan hibridisasi berhasil.

### HASIL DAN DISKUSI

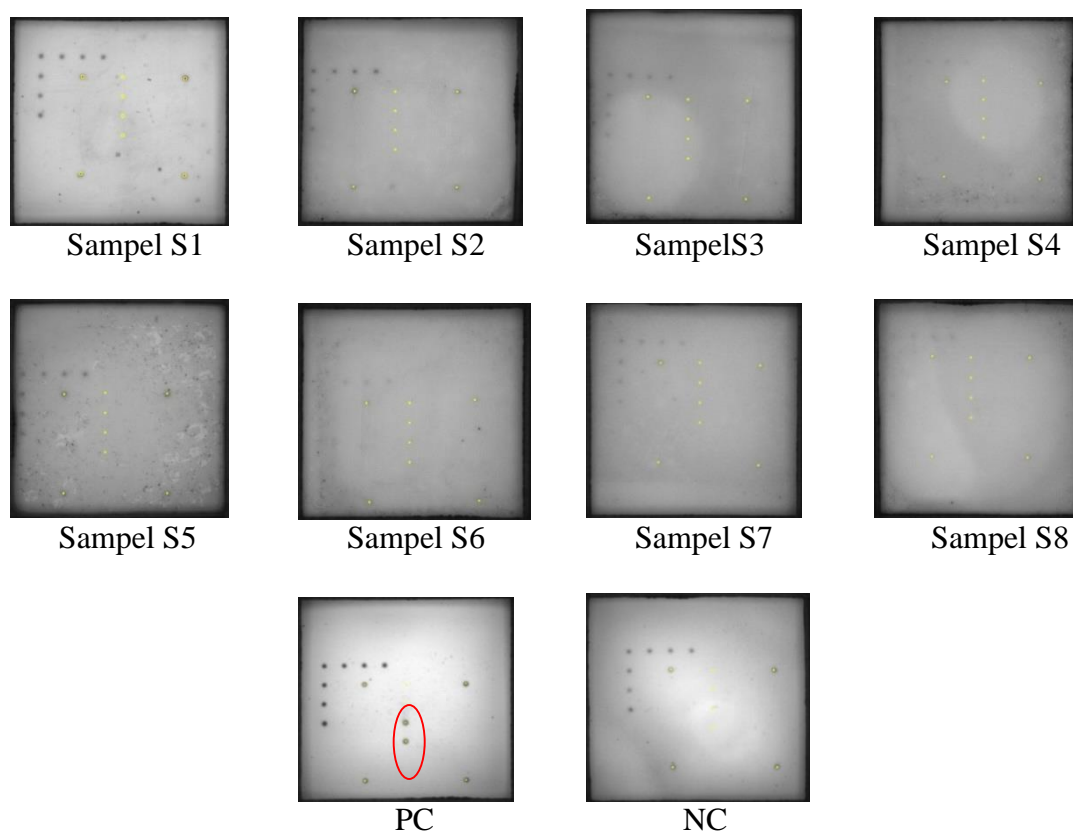
Sebanyak 8 jenis cangkang kapsul keras dan lunak dianalisis menggunakan PCR. Semua sampel menunjukkan hasil yang

negative terhadap gen babi. Ini ditunjukkan oleh Gambar 1 setelah proses elektroforesis selesai.



Gambar 1. Elektroforesis gel hasil PCR. LD : *Ladder* 100 bp; NC : control negatif; S1-S8 : sampel yang menunjukkan hasil negatif dan internal kontrol yang ditunjukkan oleh pita pada 195 bp; PC : positif kontrol yang ditunjukkan oleh pita pada 276 bp.

Sedangkan hasil southern hybridization menggunakan kit Olipro ditunjukkan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Sampel S1-S5 : kapsul cangkang keras; sampel S6-S8 : kapsul cangkang lunak; PC : positif kontrol; NC : negatif kontrol.

Proses PCR dilakukan pada suhu 95°C untuk denaturasi, 55°C *annealing*, 72°C pemanjangan, 72°C pemanjangan akhir dan 4°C pendinginan (Sahilah, et al., 2012). Penentuan suhu tersebut sudah melalui tahap pengujian yang berulang-ulang tergantung jenis sampel yang digunakan sehingga tidak diperlukan proses optimasi PCR serta efektifitas dalam pengerjaan PCR lebih tinggi. Sedangkan pada penelitian lain yang menggunakan PCR (Zetmi, 2012) harus melakukan optimasi terlebih dahulu untuk melihat suhu dan waktu optimum alat sesuai dengan jenis sampel yang digunakan.

Amplikon PCR dilihat menggunakan gel elektroforesis menggunakan gel agarose 2,5% yang dilarutkan dalam buffer TAE selama 39 menit dengan tegangan 100 volt.

Untuk proses *southern hybridization* digunakan metode OLIPRO, Sdn. Bhd.. Metode ini menggunakan OLIPRO *Porcine Gene Biochip* (OLIPRO, MY) yang memiliki sasaran yang spesifik terhadap *cytochrome b*.

Reagen yang digunakan berasal dari OLIPRO yang diberi nama reagen A, B, C, D, E, F, dan G.

Pada awalnya dilakukan denaturasi pada hasil amplifikasi PCR dengan suhu 95°C selama 10 menit. Ini dilakukan karena DNA yang diperlukan untuk proses *southern hybridization* dalam bentuk *single stranded* sedangkan hasil PCR merupakan bentuk *double stranded*. Sehingga bentuk DNA ini harus dibuat menjadi *single stranded* melalui proses denaturasi. Setelah DNA diurai menjadi *single stranded* maka larutan DNA ini dimasukkan ke dalam *chip* yang ditambah dengan reagen A, pada proses ini terjadi ikatan antara DNA dari produk PCR dengan *probe* DNA yang ada pada membran *chip*.

Hal ini terjadi karena produk PCR memiliki senyawa biotin yang berfungsi sebagai pengikat antara produk PCR dengan *probe* DNA membran melalui deteksi senyawa yang komplemen dengan produk PCR dan memberikan sinyal. Sinyal ini akan ditangkap oleh suatu enzim yaitu strep AP

(streptavidin alkalin fosfat) yang menandakan bahwa ikatan DNA produk dengan DNA membran berhasil. Hal ini terjadi karena strep AP memiliki afinitas tinggi terhadap biotin dan berikatan secara non kovalen. Setelah penambahan NBT/BCIP, maka strep AP akan berikatan dengan NBT/BCIP yang akan menghasilkan warna biru pada membran (Novel, 2011).

Warna ini yang akan tampak pada membran ketika dilihat menggunakan scanner. Setelah melakukan proses *Southern hybridization* ini, semua sampel menunjukkan hasil yang negatif terhadap gen *cytochrome b* babi yang ditandai dengan tidak adanya terbentuk dua buah dot dibagian bawah *chip* secara vertikal.

## KESIMPULAN

Kesimpulan yaitu lima cangkang kapsul keras dan tiga cangkang kapsul lunak yang diperiksa tidak ditemukan gen *cytochrome b* spesifik gen babi menggunakan *Polymerase*

*Chain Reaction* (PCR) dan *Southern hybridization*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung dengan bantuan dana dari UKM (Fundamental Grant Research Scheme), Malaysia. Ucapan terima kasih kepada UKM dan Olipro

Biotechnology Sdn. Bhd. untuk semua fasilitas lab dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cai, H., Gu, X., Scanlan, M.S., Ramatlapeng, D. H & Lively, C. R. 2012. Real-time PCR assays for detection and quantitation of porcine and bovine DNA in gelatin mixtures and gelatin capsules. *Journal of Food Composition and Analysis* 2154: 1-5.
- Dewi, C. 2011. Aplikasi penggunaan gen sitokrom b dengan teknik polymerase chain reaction (PCR) sebagai pendeteksi campuran daging tikus pada produk bakso (skripsi). Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Gadri, A & Priani, S. E. 2012. Stabilitas Kadar dan Laju Disolusi Ketoprofen dalam Sediaan Kapsul Gelatin dan HPMC-Karagenan. Prosiding SnaPP: Sains, Teknologi dan Kesehatan.
- Handoyo, D & Rudiretna, A. 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR). *Unitas*, Vol. 9, No. 1, 17-29.
- Hapsari, A & Misrianti, R. 2007. Gen sitokrom b sebagai penanda molekuler untuk mendeteksi cemaran daging tikus pada bakso. Laporan Penelitian Biologi Molekuler. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Junianto, Haetami. K., & Maulina. I. 2006. Produksi Gelatin dari Tulang Ikan dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul. Laporan Penelitian hibah Bersaing IV tahun I. Bandung : Universitas Padjajaran.
- Lin, W. F., Shiau, C. Y & Hwang, D. F. 2005. Identification of Four Thunnus Tuna Species Using Mitochondrial Cytochrome b Gene Sequence and PCR-RFLP Analysis. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 13 No. 4, Pages 382-387.
- Martianingsih, N & Atmajaya, L. 2010. Analisis Sifat Kimia, Fisik dan Termal Gelatin Dari Ekstraksi Kulit Ikan Pari (*Himantura gerrardi*) Melalui Variasi Jenis Larutan Asam. Prosiding KIMIA FMIPA – ITS.

- Novel, S. S., Safitri, R., Harijanto, S. H & Nuswantara, S. 2011. Perbandingan Beberapa Metode Molekuler dalam Uji DNA HPV (Human Papilloma Virus). CDK 186/ Vol. 38 no.5.
- Olipro, MY. 2009. Olipro™ Porcine Gene Chip, diakses 3 Maret 2013 dari <http://www.oliprobiotech.com>
- Primasari, A. 2011. Sensitivitas gen sitokrom B (cyt B) sebagai marka spesifik pada genus rattus dan mus untuk menjamin keamanan pangan produk asal daging (tesis). Bogor : Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sahilah, A. M., Mohd. Fadly, L., Norrakiah, A. S. Aminah, A., Wan Aida, W. M. Ma'aruf, A. G and Mohd. Khan, A. 2012. Halal market surveillance of soft and hard gel capsules in pharmaceutical products using PCR and southern-hybridization on the biochip analysis. International Food Research Journal 19(1): 371-375.
- Suharsono & Widyastuti, U. 2006. Pelatihan Singkat Teknik Dasar Pengklonan Gen. Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi – Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat IPB dengan DIKTI – DIKNAS, Bogor.
- Wiyono, V.S. 2001. Gelatin halal gelatin haram. Jurnal Halal LPPOM-MUI, No 36.
- Zetmi. 2012. Deteksi Gen Sitokrom b Babi Pada Steak Daging Sapi Yang Kemungkinan Tercampur Daging Babi Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) (skripsi). Padang: Universitas Andalas.

## **PENGUNAAN AMILUM UMBI SUWEG (*Amorphophallus campanulatus* BI. Decne) SEBAGAI PENGIKAT TABLET IBUPROFEN DENGAN METODE GRANULASI BASAH.**

**Nelly Suryani, M.Yanis Musdja, Afit Suhartini**

Program Studi Farmasi, FKIK, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta 15412

Email : nelly\_suryani30@yahoo.com

### **ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian terhadap penggunaan amilum umbi suweg sebagai bahan pengikat tablet ibuprofen yang pembuatannya menggunakan metode granulasi basah. Amilum merupakan polisakarida alami yang mengandung amilosa dan amilopektin yang dapat diperoleh dengan cara mengisolasi bagian tanaman secara umum mempunyai fungsi sebagai bahan tambahan dalam pembuatan tablet. Amilum yang digunakan yaitu amilum umbi suweg yang berasal dari tanaman umbi suweg (*Amorphophallus campanulatus* BI. Decne) yang telah diisolasi dan dilakukan karakterisasinya. Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk mengetahui penggunaannya dalam berbagai konsentrasi amilum umbi suweg yang difungsikan sebagai bahan pengikat. Dalam penelitian ini menggunakan enam formula dimana lima formula mengandung amilum umbi suweg dengan konsentrasi 1, 6, 11, 16, 21%. Sedangkan formula standar yang mengandung amilum manihot dengan konsentrasi 11%. Dilakukan evaluasi tablet untuk semua formula uji, kandungan ibuprofen dan laju disolusinya. Hasil penelitian yang di dapatkan adalah menunjukan bahwa amilum umbi suweg memberikan kekerasan berkisar antara 3.42-7.17 kP, sedangkan untuk kerapuhan tablet berkisar antara 0.11-8.32% dan waktu hancur berkisar antara 5.13-18.38 menit yang meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi amilum umbi suweg yang digunakan. Sedangkan pada uji disolusi menunjukan penambahan amilum umbi suweg memberikan penurunan laju disolusi terhadap tablet ibuprofen pada medium dapar foarfat pH 7.2. Penggunaan amilum umbi suweg sebagai pengikat tablet ibuprofen yang baik yaitu pada konsentrasi pati suweg 6 dan 11%

**Kata kunci** : amilum suweg, pengikat, granulasi basah

### **PENDAHULUAN**

Umbi suweg merupakan jenis jenis umbi yang berasal dari tanaman (*Amorphophallus campanulatus* BI. Decne). Umbi suweg megandung saponin, flavonoid, betulinic acid, betasitosterol. Stigmasterol, lupeol, triacontan dan beta-sitosterol.

Kegunaan umbi suweg berpotensi sebagai alternatif sumber pangan dan dapat juga berkhasiat sebagai obat sakit perut, obat luka, dan banyak kegunaan lainnya. Walaupun secara umum umbi suweg tidak begitu banyak digunakan masyarakat.

Umbi suweg seperti jenis umbi-umbi lainnya, juga mengandung amilum dan amilopektin. Amium merupakan polimer dari glukosa dalam bentuk anhidrat. Amilum

mempunyai dua ikatan gikosidik yang merupakan gabungan dari dua polisakarida yaitu amilosa dan amilopektin.

Penambahan amilum berfungsi antara lain sebagai bahan pengikat, pengisi, dan juga bisa berfungsi sebagai bahan penghancur untuk sediaan tablet. Tablet merupakan sediaan padat kompak yang dibuat dengan proses kempa/ cetak dengan bentuk silinder atau pipih dimana permukaannya rata atau cembung dengan penambahan atau tanpa bahan tambahan. Komposisi zat tambahan untuk tablet antara lain adalah yang berfungsi sebagai bahan pengisi, pengikat, pelincir, pengahancur dan bahan tambahan lainnya.

## METODOLOGI PENELITIAN

### 1. Alat

Alat-alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah : mesin pencetak tablet (Erweka), hardness tester (vanguard YD-1), friability tester (Sotax F2), desintegrator tester (Sotax DT2), timbangan analitik (Percisa Xt 220A), Dissolution tester (Sotax), jangka sorong, sieving analyzer, oven, furnace, desicator, moisture balance, spektrofotometri UV Vis.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan meliputi Ibuprofen (Indofarma), ibuprofen baku pembanding (BPOM) umbi suweg dengan umur panen 12 bulan (perkebunan percobaan cikeumeuh), amprotab Talkum, laktosa, Magnsum stearat, natrium dihidrogen fosfat, amilosa murni, larutan amilum karbonat (Brataco Chemical),

### Prosedur Penelitian

#### 3.1.1 Pembuatan amilum suweg

Umbi suweg yang telah dikupas dari kulit arinya, kemudian ditambahkan aquadest secukupnya disaring dengan kain flannel. Suspensi atau filtrat yang dihasilkan didekantasi selama 24- 48 jam hingga amilum mengendap sempurna. Cairan supernatan dibuang dan ndapannya dicuci

berulang-ulang dengan air hingga diperoleh endapan amilum yang lebih jernih. Kemudian endapan amilum dikeringkan pada suhu 50 derajat celcius selama 24 jam. Endapan serbuk yang sudah dikeringkan dihaluskan dan diayak menggunakan mesh 100 hingga diperoleh amilum umbi suweg

#### 3.1.2 Karakterisasi amilum umbi suweg

Pengujian untuk karakterisasi meliputi pengujian uji kualitatif, uji derajat putih, uji susut pengeringan, uji sisa pemijaran, penetapan pH, bentuk partikel, dan evaluasi mucilago amilum, uji kadar amilosa. Uji kadar amilosa, pembuatan kurva kalibrasi, penetapan sampel. Penapisan fitokimia yang meliputi identifikasi golongan alkaloid identifikasi golongan flavonoid, identifikasi golongan saponin, identifikasi golongan tanin, identifikasi golongan kuinon, identifikasi golongan steroid dan triterpenoid, identifikasi golongan kumarin. Juga pemeriksaan karakterisasi mikrobiologi.

#### 3.1.3. Formulasi dan pembuatan tablet

Dalam penelitian ini menggunakan lima formula dimana bobot masing-masing tablet 500 mg, perbedaan dari kelima formula ini terletak pada penambahan amilum umbi suweg sebagai bahan pengikat. Zat aktif dan bahan tambahan lain sama untuk kelima formula.

Tabel 1. Formula tablet Ibuprofen

Bahan	Formula					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ibuprofen	200	200	200	200	200	200
Amilum umbi suweg	5	30	55	80	105	-
Amilum manihot	-	-	-	-	-	55
Amprotab	25	25	25	25	25	25
Laktosa	233,3	225	216	208	200	216
Amprotab	25	25	25	25	25	25
Mg Stearat	1%	1%	1%	1%	1 %	1%
Talkum	2%	2%	2%	2%	2%	2%

Keterangan : jumlah bahan dalam mg



## 3.1.4 Pembuatan mucilago amilum umbi suweg

Amilum umbi suweg untuk formula F1 sampai F5 yaitu 0.5, 3, 5, 5, 8, dan 10,5 g. Dan untuk F6 menggunakan amilum manihot 5.5 g. Masing-masing disuspensikan dengan 5 ml aquadestilata diaduk sampai agak larut kemudian ditambahkan air panas 45 ml. Setelah itu dipanaskan diatas hot plate dengan pengadukan terus menerus sampai berbentuk gel. Pembuatan mucilago amilum suweg ini untuk mendapatkan konsentrasi 1, 6, 11, 16, dan 21 % dan amilum manihot dengan konsentrasi 11%.

## 3.1.5 Pembuatan tablet ibuprofen

Tablet yang dibuat seberat 500 mg. Bahan ditimbang sesuai dengan bobot yang diinginkan, Kemudian lakukan proses pembuatan tablet. Pada saat proses pembuatan tablet dilakukan evaluasi terhadap granul dan evaluasi terhadap tablet yang sudah dibuat. Evaluasi massa tablet meliputi pengujian kompresibilitas, waktu dan laju alir, sudut diam, kadar air, dan uji distribusi ukuran partikel, Untuk uji tablet yang sudah di etak dilakukan pengujian yang meliputi uji visual, uji keseragaman tablet, uji keseragaman bobot, uji kekerasan, uji keregasan, dan uji keseragaman kandungan.

## HASIL DAN DISKUSI

Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Bogoriensi Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor menyatakan bahwa tanaman yang digunakan adalah suweg (*Amorphophallus campanulatus* BL. Decne).

Pembuatan amilum suweg: isolasi sekitar 6 kg umbi suweg dengan cara dekantasi menggunakan aquadest selama 24 jam menghasilkan serbuk pati berwarna putih sedikit kecoklatan sebanyak 190 gram dengan rendemen proses sebesar 6.33%.

Tabel 2. Hasil karakteristik amilum umbi suweg

Jenis pengujian	Hasil	Syarat
Uji Iodium	Positif (biru)	Positif (biru)
Sisa pemijaran	0.17%	< 1%
pH	6.87	4 - 7
Susut pengeringan	10.39%	< 15 %
Derajat putih	92.5, putih sedikit coklat	95 (putih)
Bentuk dan ukuran partikel	Bentuk heksagonal, ukuran partikel 5 um	Bentuk : berpariasi Ukuran partikel bervariasi
Kadar amilosa	19.38%	Bervariasi
Organoleptik		
Bau	Tidak berbau	Tidak berbau
Rasa	Tidak brasa	Tidak berasa
warna	Putih	Putih
kelaruran	Sukar larut dalam air dingin dan larut dalam air panas	Sukar larut dalam air dingin dan larut dalam air panas
Uji batas mikroba	Bebas. E.coli	Bebas E.coli

Determinasi tanaman umbi suweg, yang digunakan sebagai penghasil pati adalah dilakukan determinasi terhadap tanaman umbi suweg dengan tujuan untuk mengetahui bahwa tanaman yang digunakan adalah benar sesuai dengan yang diharapkan. Hasil karakteristik amilum pada identifikasi kimia menghasilkan warna biru gelap yang menunjukkan identitas dari amilum suweg bahwa sampel yang digunakan adalah amilum yang masih utuh. Warna biru yang terbentuk berasal dari amilum yang diberikan penambahan iodine. Bila amilum dipanaskan spiral merenggang, molekul-molekul iodine terlepas sehingga warna biru hilang namun saat dingin iodine terlepas akan terikat kembali dan terbentuk biru kembali (Winarno FG. 2002) dari derajat putih menunjukkan bahwa amilum yang dihasilkan dari umbi suweg berwarna putih sedikit coklat dengan nilai derajat putih 92,5. Warna putih amilum disimpulkan dari perbandingan antara nilai derajat putih amilum suweg dan BaSO<sub>4</sub>. Hasil sisa pemijaran dari amilum suweg yang diperoleh yaitu 0.17% , Hasil yang didapat memenuhi syarat karena tidak lebih dari 1%. Rendahnya sisa pemijaran dari amilum suweg menunjukkan kandungan mineral pada amilum berasal hanya dari kandungan amilum itu sendiri. Bentuk

partikel bervariasi tergantung tanaman yang digunakan sebagai penghasil amilum. Uji kadar amilosa merupakan suatu evaluasi yang dapat mempengaruhi proses pengembangan amilum dan tingkat kekentalan. Kadar amilosa bervariasi antara 14-27%. Hal ini tergantung dari sumber amilum dan tempat tumbuhnya. Hasil perolehan evaluasi kadar amilosa amilum suweg yang diperoleh yaitu 19.38% dan amilopektin 80.62%. Hasil persentase dari amilosa dan amilopektin amilum umbi suweg menunjukkan bahwa dalam amilum umbi suweg kandungan yang lebih besar yaitu amilopektin. Dimana amilopektin tersebut mempunyai sifat viskositas dan dapat digunakan sebagai pengikat dan perekat. Uji mucilago amilum dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya ikat amilum menggunakan viskositas mucilago amilum. Uji mucilago amilum merupakan parameter yang menunjukkan amilum dapat digunakan sebagai pengikat (Mar'UU, 1983). Karakterisasi mikrobiologi dilakukan dengan tujuan untuk menetapkan jumlah bakteri E.coli pada amilum untuk mengetahui apakah amilum tersebut memenuhi syarat. Dari hasil uji tidak ditemukan adanya bakteri E.coli pada amilum suweg.

Tabel 3. Hasil evaluasi massa tablet ibuprofen

Parameter	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Laju alir (g/dtk)	1.82	2.45	1.50	1.05	1.35	1.20
Kompresibilitas (%)	12.5	7.69	9.09	10	14.2	9.09
Kadar air (%)	3.08	3.88	4.35	3.85	3.7	3.75
Sudut henti	20.5	14.72	16.9	20.6	21.8	17.8

Dalam penelitian ini menggunakan ibuprofen sebagai model obat yang dibuat dengan metode granulasi basah. Dibuat sebanyak enam variasi formula. Amilum umbi suweg yang digunakan sebagai pengikat didasarkan pada parameter uji mucilago amilum suweg dan evaluasi tablet. Dari keenam formula didapatkan hasil dari evaluasi massa

granul dari segi kadar air memenuhi syarat yaitu 2-5%, begitu juga kompresibilitasnya berada dalam rentang 5-15% yang merupakan syarat dari nilai indeks kompresibilitas menurut Farmakope Indonesia. Evaluasi sudut diam dan evaluasi distribusi ukuran partikel juga memenuhi syarat bahwa massa tablet dapat dicetak untuk menjadi sediaan tablet.

Tabel 4. Hasil evaluasi tablet ibuprofen

Parameter	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Kekerasan (kg/cm)	3,42±0,1216	5,62±0,1044	6,57±0,1058	6,85±0,3536	7,17±0,1743	6,72±0,1928
Friabilitas	8,32±0,1609	0,623±0,008	0,41±0,014	0,187±0,001	0,114±0,005	0,236±0,027
Waktu hancur (mnt)	5,13±0,4942	12,34±0,1178	13,27±0,1212	13,85±0,113	18,38±0,088	18,38±0,1417
Keseragaman bobot	531±8,39	519±6,88	521±1993	530,42±6,77	494,37±10,09	526,88±1193
Keseragaman ukuran						
O Panjang	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm	1,9 cm
O Lebar	0,9 cm	0,9 cm	0,9 cm	0,9 cm	0,9 cm	0,9 cm
O tebal	0,1 cm	0,1 cm	0,1 cm	0,1 cm	0,1 cm	0,1 cm
Penetapan kadar (%)	102,92	99,53	103,93	105,82	101,02	104,80

Tabel 5 Data pelepasan Tablet ibuprofen dalam medium dapar fosfat pH 7.2

Waktu	Kadar (%) Ibuprofen yang terdisolusi					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
5 menit	18,2	14,7	11,3	7,83	4,30	12,46
10 menit	36,5	30,7	21,8	17,2	5,21	25,92
15 menit	55,1	40,2	39,5	30,5	18,0	46,26
20 menit	55,8	60,6	57,9	50,8	32,1	59,62
30 menit	76,3	72,5	71,3	59,4	39,0	71,68
45 menit	79,3	73,6	72,3	67,3	47,8	72,32
60 menit	90,5	77,7	74,1	70,2	56,5	74,10

Evaluasi sediaan tablet formula F1-F6 memiliki bentuk permukaan yang licin tapi dari segi warna lebih terlihat coklat yang menggunakan pengikat amilum suweg dibanding F6 yang dibuat dengan pengikat amilum. Dari evaluasi keseragaman bobot, kekerasan keseragaman ukuran semua memenuhi persyaratan Farmako Indonesia. Dari segi kekerasan formula yang menggunakan amilum suweg lebih keras dibanding yang menggunakan amilum biasa, hal ini mungkin disebabkan karena kandungan amilopektin amilum suweg lebih tinggi.

Uji disolusi merupakan parameter yang menunjukkan kecepatan pelarutan obat dari tablet. Menurut Farmakope Indonesia jumlah ibuprofen yang dilepaskan dalam waktu 30 menit tidak kurang dari 70% (Q) dari jumlah yang tertera pada etiket. Jumlah ibuprofen

yang dilepaskan pada menit ke-30 untuk formula F1 adalah 76.30%, formula F2 72.52%, formula F3 71.32%. Formula F4 59.45%, F5 29.03% sedangkan untuk formula F6 71.68%. Hasil pelepasan ibuprofen dari tablet yang menggunakan mucilago amilum umbi suweg sebagai pengikat yang melepaskan ibuprofen pada menit hanya 70% yang terlepas. Hal ini bisa disebabkan karena pembentukan gel yang terlalu kuat yang dapat menghambat proses disolusi zat aktif. Dari analisis terhadap persentase disolusi tablet F4 dan F5 mempunyai perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan formula F6 sebagai kontrol positif. Namun pada formula F1, F2 dan F3 mempunyai hubungan yang identik dengan formula F6 sebagai kontrol positif.

## KESIMPULAN

Dari uji viskositas amilum dan kerapuhan tablet yang dihasilkan dibandingkan formula standart, amilum suweg dapat digunakan untuk pengikat tablet ibuprofen dengan konsentrasi 6,11,16, dan 21%. Dari hasil uji disolusi terhadap persentase disolusi tablet F4 dan F5 mempunyai perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan formula F6 sebagai kontrol positif. Namun

pada formula F1, F2 dan F3 mempunyai hubungan yang identik dengan formula F6 sebagai kontrol positif. Sehingga persentase disolusi terbesar yaitu  $F1 > F2 > F6 > F3 > F4$ .

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pemanfaatan amilum umbi suweg untuk bahan tambahan lainnya dalam pembuatan tablet.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1982 Martindale, The Extra Pharmacopeia Edisi 28, The pharmaceutical Press, London hal, 256-257.
- Aryadi, B dan Rumawas F. Percobaan stek daun pada beberapa jenis *Amorphophallus*, 2004 IPB bogor.
- Departemen Kesehatan RI 1995. Inventaris Tanaman Obat Indonesia.
- Departemen Kesehatan Indonesia RI 1995 Farmakope Indonesia Edisi IV. Departemen Kesehatan RI. Jakarta hal 6-8, 756.
- Faridah, Didah N. 2005 Kajian sifat Fungsional Umbi Suweg (*Amorphophallus campanulatus* Bl. Dence) secara in vivo pada manusia Lembaga penelitian dan pengabdian IPB, Bogor.
- Faridah, Didah N. 2005. Sifat-fisika kimia tepung suweg (*Amorphophallus campanullus* Bl. Dence) dan indeks glikemiknya. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan Vol. No. hal 316.
- Mar'u UU, H tati, RU Fifi, SR debie. 1983. Pengaruh Viskositas bahan pengikat terhadap sifat fisik granul dan terhadap kecepatan disolusi teofilin dari granul.
- Manudhane KS, Contractor AM, Kim HY, Shangway RF, Tableting and properties of A directly compressible starch. J Pharm Sci. 58, hal 616-620.
- Suharyona, BE 2000. Pengaruh jumlah air penggranulasi, jumlah pengikat dan perbedaan bahan aktif terhadap disolusi tablet acyclovir-400 mg. Dalam kongres Ilmiah ISFI XIII, Kimia Farma.

## **PENGEMBANGAN ANTIBODI MONOKLONAL TERHADAP ANTIGEN SPESIFIK *Mycobacterium tuberculosis* SEBAGAI KANDIDAT DIAGNOSIS TUBERKULOSIS MELALUI SPUTUM**

**Netti Suharti\*, Andani Eka Putra**

\*Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

### **ABSTRAK**

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang umumnya mengenai jaringan paru yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis complex*. Diperkirakan dua pertiga penduduk dunia sudah terinfeksi oleh mikroorganisme ini dengan penderita berjumlah 17.1 juta orang. Diagnosis dini merupakan kunci utama dalam pengendalian TB. Pengembangan teknik sero-imunologis melalui pengembangan antibodi monoklonal untuk mendeteksi antigen spesifik dalam sputum diperkirakan akan memberikan hasil yang baik.

Penelitian tahun pertama bertujuan untuk mengisolasi protein kultur filtrat *M. Tuberculosis* dan isolasi klon sel Hibridoma penghasil antibodi.

Penelitian dilakukan dengan mengkultur bakteri *M. Tuberculosis* dalam medium cair Middlebrook 7H9 dan mengisolasi protein tersekresi di dalam nya dengan teknik sentrifugasi dan filtrasi. Protein yang didapat diimunisasikan pada mencit Balb/C untuk menginduksi aktivitas sel limfosit. Sel limfosit selanjutnya difusikan dengan sel mieloma sehingga terbentuk sel hibridoma. Dilakukan identifikasi sel hibridoma producer yang mempunyai kemampuan menghasilkan antibodi.

Pada penelitian ini berhasil didapatkan protein kultur filtrat yang terdiri dari banyak fragmen protein dan diketahui bahwa imunisasi secara intraperitoneal memberikan respon imunologis yang lebih baik. Hasil fusi sel mieloma dan sel limfosit berhasil dilakukan dan didapatkan sel *hibridoma producer*.

**Kata kunci:** *M. tuberculosis*, kultur filtrat protein, hibridoma producer, antibodi

### **PENDAHULUAN**

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi yang umumnya mengenai jaringan paru yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis complex*. Diperkirakan dua pertiga penduduk dunia sudah terinfeksi oleh mikroorganisme ini dengan penderita berjumlah 17.1 juta orang. Kasus baru ditemukan sekitar 8.8 juta kasus setiap tahunnya dengan angka kematian sekitar 1.7 juta orang (WHO, 2005).

Diagnosis dini merupakan kunci utama dalam pengendalian TB. Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) merupakan metoda diagnosis yang paling banyak digunakan, namun sensitivitas hanya 40 – 60%, sebaliknya kultur merupakan metoda diagnosis pasti, namun membutuhkan waktu

lama (van Deun dan Portaels., 1998; Frida et al., 2006).

Metoda diagnosis yang paling menarik saat ini adalah deteksi antigen tersekresi, seperti ESAT-6, CF-10 dan 16-kDa kristalin. Bouda *et al* (2000) memperlihatkan deteksi *Lipoarabinoman* (LAM) dalam sputum merupakan metoda diagnosis yang sensitif namun tidak spesifik. Fenomena ini memberikan harapan bahwa deteksi antigen spesifik ESAT-6 atau CF-10 *M. tuberculosis* akan memberikan hasil diagnosis yang lebih spesifik dan sensitif. Hal itu disebabkan antigen ini hanya dimiliki oleh *M. tuberculosis complex*, tidak ditemukan pada *M. atipik* atau *M. bovis* strain BCG dan yang paling penting disekresikan ke lingkungan. Pengembangan suatu antibodi

monoklonal diharapkan akan dapat mengidentifikasi protein tersekreksi tersebut (Bouda *et al.*, 2000; Erns *et al.*, 2007; Brodin *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini dicoba dikembangkan antibodi monoklonal spesifik terhadap protein *M. tuberculosis*. Sejauh

mana kemampuan diagnostik antibodi monoklonal ini akan dianalisis dengan menggunakan kultur bakteri sebagai standar baku emas dan dibandingkan apakah kemampuan diagnostik antibodi monoklonal ini dengan metoda lain, seperti Elispot, Quantiferron dan deteksi antibodi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan eksperimental murni dan ditujukan untuk mendapatkan antibodi monoklonal spesifik terhadap protein kultur filtrat *M. tuberculosis*.

### Kultur *M. tuberculosis* pada medium Lowenstein Jensen

Isolat *M. tuberculosis* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FK. Unand, kultur dilakukan dengan menggunakan medium Lowenstein Jensen. Pengamatan dilakukan selama 4 – 8 minggu. Identifikasi *M. tuberculosis* didasarkan pada lama pertumbuhan, morfologi koloni dan reaksi biokimia

### Preparasi Kultur Filtrat Protein (CFP)

Koloni *M. tuberculosis* dimasukkan ke dalam medium Middlebrook cair dan diinkubasi. 2-3 minggu dalam shaker inkubator. Setelah diinkubasi dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan protein dengan bakteri. Sentrifugasi pada 5000 RPM selama 30 menit. Supernatan dipisahkan dari pelet dan difiltrasi dengan durapore 0.22  $\mu$ , sehingga didapatkan protein yang terbebas dari bakteri. Konsentrasi protein diperiksa dengan metoda Bradford dan dibaca pada ELISA dengan panjang gelombang 595 nm. Protein yang didapat diionofilisasi untuk mendapatkan konsentrasi yang lebih tinggi.

### Standar mutu protein

Protein harus bebas dari kontaminasi, sehingga dilakukan pemeriksaan kontaminasi dengan menggunakan agar darah. Suspensi protein yang telah terkontaminasi tidak dipergunakan.

### Pembuatan antibodi monoklonal

Ini merupakan tahapan penelitian yang terpanjang. Tahapan diawali dengan imunisasi pada mencit dengan antigen spesifik *M. Tuberculosis*, yaitu protein ESAT-6. Setelah didapatkan periode dengan respon antibodi yang tertinggi, dilakukan isolasi limfosit dari limfa mencit, dihitung dengan jumlah  $10^8$  sel. Sel mieloma dipilih dengan jumlah yang sama limfosit, dilakukan fusi sehingga didapatkan sel hibridoma. Selanjutnya dilakukan seleksi hibridoma untuk memisahkan hibridoma dengan sel mieloma dan limfosit yang tidak berfusi. Prosedur ini dilakukan dengan media seleksi hipoxantin, aminopterin dan timidin (HAT), dalam hal ini sel hibridoma dan limfosit yang tidak berfusi akan mati. Selanjutnya ditambahkan *feeder cells*, dalam hal ini makrofag untuk makrofagosit sel-sel yang mati.

Dilakukan prosedur kloning untuk mendapatkan satu klon hibridoma penghasil antibodi. Prosedur ini dilakukan dengan menempatkan 1 sel hibridoma dalam tiap sumuran. Identifikasi hibridoma penghasil antibodi monoklonal (producer) dan bukan penghasil, dilakukan analisis supernatan dari tiap sumuran dengan menggunakan ELISA. Kelompok non produser selanjutnya dibuang. Sehingga pada akhirnya didapatkan sumuran dengan hibridoma produser.

Tahapan berikutnya adalah propagasi hibridoma produser yang dilakukan secara *in vivo*, yaitu dengan menyuntikkan klon hibridoma pada mencit secara intraperitoneal. Dalam 2 minggu, mencit akan mengalami ascites yang mengandung banyak antibodi monoklonal.

Antibodi monoklonal yang dihasilkan dipresipitasi dengan amonium sulfat jenuh dan dipurifikasi dengan teknik afinitas kromatografi. Pada akhir tahapan ini didapatkan suatu antibodi monoklonal dan klon sel hibridoma produser.

### Implikasi etik pada hewan

Persyaratan etik pada hewan coba didasarkan pada protokol penggunaan hewan coba untuk penelitian yang dikeluarkan oleh komisi etik penelitian Universitas Andalas.

### HASIL

Penelitian pada tahap pertama ditujukan untuk mendapatkan protein kultur filtrat dan mengisolasi klon hibridoma penghasil antibodi. Karakteristik antibodi dan uji diagnostik baru dilakukan pada tahun kedua sesuai yang direncanakan dalam proposal penelitian. Klon hibridoma yang telah diisolasi dapat disimpan dalam jangka panjang dalam tabung nitrogen.

### Preparasi protein Kultur Filtrat *M. tuberculosis*

Protein kultur filtrat merupakan protein yang disekresikan oleh bakteri *M. tuberculosis* ke dalam lingkungan dan terdiri dari banyak protein antara lain esat-6, cfp-10, 18 kDa, 38 kDa dan lain sebagainya.

Identifikasi detail protein tidak dilakukan dalam tahapan ini karena akan dilakukan pada saat penilaian karakteristik antibodi.

Bakteri *M. tuberculosis* ditumbuhkan pada medium cair Middlebrook 7H9 selama 15 hari tanpa ditambah dengan suplemen OADC, namun diberikan antibiotika PANTA (Becton Dickinson) untuk mencegah kontaminasi. PANTA mengandung sejumlah antibiotika dan anti jamur, antara lain amfoterisin, Nalidixid acid, trimethoprim dan vancomisin. Pada penelitian ini digunakan 2 (dua) isolat bakteri, yaitu isolat *M. tuberculosis* strain H37Rv yang didapat dari bagian Mikrobiologi FK. UGM dan isolat lokal yang didapat dari RS. Dr. Sardjito. Isolat lokal telah diidentifikasi sebagai *M. tuberculosis* dengan menggunakan sejumlah reaksi biokimia, seperti Niasin, Para Nitro Benzoic Acid, katalase dan Nitrat (gambar 1).

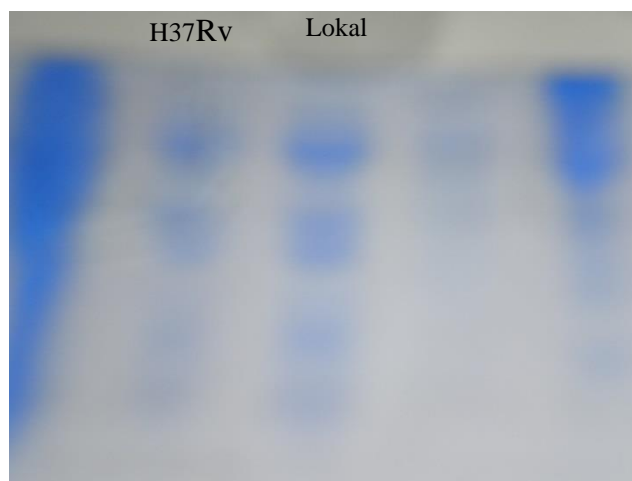
Untuk menjamin bahwa protein yang didapat benar-benar berasal dari *M. tuberculosis* dilakukan identifikasi kemungkinan kontaminasi dengan agar darah. Hasil pemeriksaan tidak ada pertumbuhan bakteri lain, yang memperlihatkan bahwa suspensi bakteri benar-benar berasal dari *M. tuberculosis*.



Gambar 1. Kultur *M. tuberculosis* dalam medium padat Lowenstein Jensen dan medium cair Middlebrook 7H9

Protein yang terdapat dalam suspensi dipisahkan dari bakteri dengan sentrifugasi pada 5000 RPM selama 15 menit dan filtrasi dengan durapore 0.22. Protein yang diperoleh

dielektroforesis dengan SDS-PAGE. Visualisasi elektroforesis memperlihatkan pola pita yang terpisah – pisah (gambar 2).



Gambar 2. Hasil elektroforesis protein dari isolat *M. tuberculosis* H37Rv dan lokal. Band terlihat tipis karena konsentrasi protein yang sangat rendah.

Pada penelitian ini, konsentrasi protein terlihat sangat rendah saat dinilai dengan metoda Bradford (tabel 1). Fenomena ini memperlihatkan sedikitnya jumlah protein yang disekresikan oleh bakteri *M. tuberculosis*. Penelitian ini tidak dapat menjelaskan penyebab rendahnya produksi protein tersekresi oleh *M. tuberculosis*.

Tabel 1. Konsentrasi protein dari isolat *M. tuberculosis* strain H37Rv dan lokal

No	Isolat	Konsentrasi (ug/ml)
1	H37Rv 1	7
2	H37Rv 2	4,9
3	Lokal 1	28
4	Lokal 2	17,85

Hasil ini memperlihatkan gambaran yang sesuai dengan yang ditemukan oleh penelitian lain, dimana semakin virulen suatu bakteri *M. tuberculosis*, maka variasi protein yang diproduksi akan semakin banyak. Hal itu disebabkan sebagian besar protein yang dihasilkan menentukan viabilitas dan virulensi bakteri itu sendiri.

#### Pengembangan sel hibridoma penghasil (hibridoma producer)

##### Imunisasi

Imunisasi mencit Balb/C menggunakan protein kultur filtrat dengan

konsentrasi 5 ug/ml sebanyak 100 ul. Agar memberikan respon imun yang lebih baik diberikan *freud adjuvan complet dan incomplet* dalam volume yang sama dengan protein kultur filtrat. Imunisasi diberikan dalam 3 (tiga) tahapan dengan interval 12 hari, yang diawali dengan complet dilanjutkan dengan 2 kali tahapan incomplet. Pada penelitian ini digunakan 2 (dua) model imunisasi, yaitu intraperitoneal dan subkutan. Protein yang digunakan juga 2 (dua) jenis, yaitu yang berasal dari strain H37Rv dan isolat lokal. OD antibodi yang terbentuk dibandingkan dengan kontrol (tabel 2).



Tabel 2. Nilai Optical density (OD) IgG terhadap protein kultur filtrat

No	Isolat	Nilai OD
1	Mencit 1 dengan protein H37Rv subcutan	0.236
2	mencit 2 dengan protein H37Rv subkutan	0.357
3	Mencit 3 dengan protein H37Rv subkutan	0.382
4	Mencit 4 dengan protein H37Rv subkutan	0.344
5	Mencit 5 dengan protein H37Rv intraperitoneal	0.421
6	Mencit 6 dengan protein H37Rv intraperitoneal	0.389
7	Mencit 7 dengan protein H37Rv intraperitoneal	0.453
8	Mencit 8 dengan protein H37Rv intraperitoneal	0.552
9	Mencit 1 dengan protein lokal subcutan	0.435
10	mencit 2 dengan protein lokal subkutan	0.561
11	Mencit 3 dengan protein lokal subkutan	0.415
12	Mencit 4 dengan protein lokal subkutan	0.329
13	Mencit 5 dengan protein lokal intraperitoneal	0.547
14	Mencit 6 dengan protein lokal intraperitoneal	0.681
15	Mencit 7 dengan protein lokal intraperitoneal	0.778
16	Mencit 8 dengan protein lokal intraperitoneal	0.649

Berdasarkan data ini terlihat bahwa mencit nomor 7 yang mendapat imunisasi dengan protein lokal secara intraperitoneal memperlihatkan nilai OD IgG anti protein lokal yang lebih tinggi dari yang lain. Hal ini menyebabkan mencit ini dijadikan sebagai objek untuk isolasi limfosit.

#### Fusi limfosit dengan sel Mieloma

Fusi sel limfosit dan sel mieloma dilakukan secara in vitro dengan bantuan fusogen yaitu Poli Ethilen Glikol (PEG) dengan konsentrasi 45%, dengan pH 8.0 – 8.2. Keadan ini dianggap optimal untuk fusi sel (Soeyoko, 1992). Untuk mencegah kontaminasi ditambahkan antibiotika dan anti jamur, yaitu penisilin 100 ug/ml, streptomisin 100 ug/ml dan Fungizon 2%. Pada fusi ini juga ditambahkan makrofag sebagai feeder cells yang berperan dalam memfagosit semua sel-sel mati dan bahan sisa.

Sel mieloma bersifat immortal sedangkan limfosit mortal, sehingga pada prosedur fusi, sel sel mieloma dan limfosit yang tidak berfusi harus dibuang. Pada penelitian ini digunakan HAT yang bersifat toksik terhadap sel mieloma sedangkan sel limfosit akan mati dengan sendirinya. Pada akhirnya dalam medium fusi akan ditemukan hanya sel hibridoma.

Sel hibridoma terdiri dari hibridoma producer yaitu sel yang mempunyai kemampuan menghasilkan antibodi dan non producer, yang tidak mempunyai kemampuan menghasilkan antibodi. Identifikasi sel ini ditentukan dari ada tidaknya anti IgG yang terbentuk pada kultur sel tersebut. Pada penelitian ini ditemukan klon hibridoma producer terdapat pada sumuran nomor A3.

### KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Telah dapat dilakukan purifikasi sederhana protein kultur filtrat dari bakteri *M. tuberculosis* H37Rv dan isolat lokal
2. Telah dapat diidentifikasi klon sel hibridoma producer

## DAFTAR PUSTAKA

- American Thoracic Society. 2000. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med.* 161: 1376–1395
- Ang, C.F., Mendoza, M.T., Bulatao, W and Cajucom, M.A.W. 2001. Culture Isolation of Mycobacteria by MB/BacT System Compared to Lowenstein Jensen Egg Medium Culture Method. *Phil J Microbiol Infect Dis.* 30): 40-3
- Bouda, L.M.P.A., Nguyen, L.N., Ho, L., Kuijper, S., Jansen, H.M dan Kolk, A.J. 2000. Development of Antigen Detection Assay for Diagnosis of Tuberculosis Using Sputum Samples. *J. Clin. Microbiol.* 38 : 2278–2283
- Brodin, P., Majlessi, L., Marsolier, L., de Jonge, M.I., Bottai, D., Demangel, C., Hinds, J., Neyrolles, O., Butcher, P.D., Leclerc, C., Cole, S.T dan Brosch, R., 2006. Dissection of ESAT-6 System 1 of Mycobacterium tuberculosis and Impact on Immunogenicity and Virulence. *Infect. Immun.* 74 : 88 – 98
- Cardoso, LL., et al. 2002. Cell Responses to the Mycobacterium tuberculosis-Specific Antigen ESAT-6 in Brazilian Tuberculosis Patients. *Infect. Immun.* 70 (12): 6707-6714.
- Demissie, A. et al. 2006. Recognition of Stage-Specific Mycobacterial Antigens Differentiates between Acute and Latent Infections with Mycobacterium tuberculosis. *Clin. Vacc. immunol.* . 13 (2) : 179-186
- van Deun, A dan Portaels, A., 1998. Limitations and requirements for quality control of sputum smear microscopy for acid-fast bacilli. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2: 756–765.
- Ernst, J.D., Nunez, G.T dan Banaiee, N., 2007. Genomics and the evolution, pathogenesis, and diagnosis of Tuberculosis. *J. Clin. Invest.* 117 : 1738 – 1745.
- Frida, E., Ibrahim, S., Hardjoeno. 2006. Analisis temuan Basil Tahan Asam pada sputum cara langsung dan sedian konsentrasi pada suspek Tuberkulosis. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory.* 12 : 62- 64
- Gennaro, M.L., 2000. Immunologic Diagnosis of Tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 30 : S243 – 6.
- Piersimoni, C and, Scarparo, C., 2003. Relevance of commercial amplification methods for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 41:5355–65
- Mixides, G., Shende, V., Teeter, L.D., Awe, R., Musser, J.M., Graviss, E.A., 2005. . Number of Negative Acid-Fast Smears Needed To Adequately Assess Infectivity of Patients With Pulmonary Tuberculosis. *Chest.* 128 : 108-115
- van Pinxteren, L.A.H., Ravn, P., Agger, E.M., Pollock, J and Andersen, P., 2000. Diagnosis of Tuberculosis Based on the Two Specific Antigens ESAT-6 and CFP10. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 7 : 155 – 60.
- Smith, I., 2003. Mycobacterium tuberculosis ; Pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin.Microbiol. Rev.* 16 (3) : 463 – 96.
- Shen, G., Bahera, D., Bhalla, M., Nadas, A and Laal, S., 2009. Peptide-Based Antibody Detection for Tuberculosis Diagnosis. *Clin.Vacc. Immunol.* 16 : 49 – 54.
- Sorensen, A.L., Nagai, S., Houen, G., Andersen, P dan Andersen, A.B., 1995. Purification and Characterization of a Low-Molecular-Mass T-Cell Antigen Secreted by Mycobacterium tuberculosis. *Infect. Immun.* 63 : 1710–1717.
- WHO., 2005. Global Tuberculosis Control; Surveillance, Planning, Financing. WHO. Geneva.
- Wang, JY., Chou, CH., Lee, LN., Hsu, HL., Jan, IS., Hsueh, PR., Yang, PC and Luh, KT., 2007. Diagnosis of Tuberculosis by an Enzyme-Linked Immunospot Assay for Interferon- $\gamma$ . *Emerging Infectious Diseases* 13 : 553 – 8.

## UJI IMUNOMODULATOR BEBERAPA SUBFRAKSI EKSTRAK ETIL ASETAT MENIRAN (*Phyllanthus niruri* [L]) PADA MENCIT PUTIH JANTAN DENGAN METODA CARBON CLEARANCE

Yufri Aldi, Nisya Ogiana, Dian Handayani  
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

### ABSTRAK

**Latar Belakang :** Meniran merupakan nama latin dari *Phyllanthus niruri* L. Tanaman ini digunakan untuk meningkatkan system imun tubuh manusia. Sistem imun nonspesifik merupakan pertahanan pertama untuk melindungi tubuh manusia dari mikroorganisme, karena ini memberikan respon langsung pada antigen selanjutnya akan menghancurkan bakteri dengan proses fagositosis. Ekstrak meniran diketahui dapat merusak xanthin oksidase secara invitro, melindungi sel hepatosit pada hati dari karbon tetraklorida dan sitotoksik yang diinduksikan dengan galaktosamin.

**Tujuan :** Untuk menguji aktivitas imunomodulator beberapa subfraksi ekstrak etil asetat meniran (*Phyllanthus niruri* [L.]).

**Metoda :** Beberapa ekstrak etil asetat meniran (*Phyllanthus niruri* [L.]) dalam dosis tunggal 100 mg/kgBB diberikan secara oral pada 8 kelompok subfraksi dan Tween 80 1% sebagai kontrol selama 6 hari. Setelah 6 hari karbon diinjeksikan secara intravena pada mencit putih jantan dengan menghitung jumlah bersihan karbon yang masih tertinggal. Nilai indeks fagositosis (IF) < 1 mempunyai aktivitas imunosupresan dan IF > 1 mempunyai aktivitas imunostimulan.

**Hasil :** Peningkatan indeks fagositosis dengan metoda bersihan karbon (*carbon clearance*) untuk setiap kelompok subfraksi terhadap kontrol tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ). Peningkatan jumlah komponen sel leukosit darah untuk sel limfosit, eosinofil dan neutrofil segmen menunjukkan perbedaan yang nyata pada setiap kelompok subfraksi ( $P<0,05$ ). Peningkatan bobot limpa relatif menunjukkan efek optimal pada subfraksi ketiga ( $P>0,05$ ). Peningkatan jumlah sel limfosit limpa memberikan hasil optimal pada subfraksi ketiga ( $P<0,05$ ).

**Kesimpulan :** Subfraksi ekstrak etil asetat meniran ketiga mempunyai kemampuan imunostimulant paling baik dibandingkan kelompok subfraksi yang lain.

**Kata kunci:** *Phyllanthus niruri* L., Efek Imunostimulan, Etil asetat, Metoda *Carbon Clearance*

### PENDAHULUAN

Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan mikroorganisme, karena memberikan respons langsung terhadap antigen (Baratawidjaja, 2000). Salah satu upaya tubuh untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen, misalnya bakteri adalah menghancurkan bakteri bersangkutan secara non spesifik dengan proses fagositosis. Makrofag sebagai sel fagosit mononuklear dalam pertahanan seluler non spesifik

memegang peranan penting demikian pula neutrofil dan monosit. Sel-sel fagosit tersebut harus berada dalam jarak dekat dengan partikel bakteri, sehingga memungkinkan lepasnya zat atau mediator tertentu yang disebut faktor leukotaktik atau kemotaktik yang berasal dari bakteri ataupun makrofag yang sebelumnya telah berada dilokasi bakteri atau yang dilepaskan oleh komplemen (Kresno, 1991).

Salah satu herba yang dapat dimanfaatkan sebagai peningkat sistem

pertahanan tubuh adalah meniran. Meniran adalah herba yang berasal dari genus *Phyllanthus* dengan nama ilmiah *Phyllanthus niruri* L. (Heyne, 2001). Tanaman meniran banyak digunakan untuk *hepatitis*, infeksi salurankencing, serta untuk merangsang keluarnya air seni (*diureticum*), untuk penyembuhan diare, infeksi saluran pencernaan dan penyakit yang disebabkan karena gangguan fungsi hati. Buahnya berasa pahit, digunakan untuk luka dan *scabies*. Akar segar digunakan untuk pengobatan *hepatitis*. Daun digunakan untuk penambahan nafsu makan dan *antipiretik* (Sudarsono, 1998).

Meniran juga mempunyai manfaat sebagai imunostimulan yang dapat memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu. Secara klinis imunomodulator digunakan pada pasien dengan gangguan imunitas, antara lain pada kasus keganasan HIV/AIDS, malnutrisi, alergi, dan lain-lain (Sjahrurachman, 2004). Berbagai penelitian telah dilakukan menggunakan ekstrak herba meniran, seperti pengujian efek antihiperurisemia ekstrak etanol *Phyllanthus niruri* L. yang memperlihatkan penghambatan *xanthin oxidase* secara *in vitro* dengan  $IC_{50} 39,39 \mu\text{g/mL}$  (Murugaiyah, 2009). Penelitian ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) mempunyai aktivitas diuretik karena terjadi peningkatan volume urin dan ekskresi  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  setelah ekstrak kental dari *Phyllanthus niruri* L. disuntikkan pada tikus albino dosis 200 mg/kg dan 400

mg/kg yang sebelumnya telah diinduksi menggunakan hidroklorthiazid dosis 10 mg/kg (Udupa, 2010). Penelitian lain tentang kandungan kimia dari *Triphala megaExt* mempunyai efek imunomodulasi yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, glikosida, dan komponen fenolik (Rinki, 2011).

Ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) memiliki aktivitas melindungi hati dari zat toksik baik berupa parasit, obat-obatan, virus maupun bakteri (Mathur, 2011). Pada penelitian lain menunjukkan bahwa tanaman meniran (*Phyllanthus niruri* L.) memiliki aktivitas melindungi sel hepatosit hati dari karbon tetraklorida dan sitotoksitas yang diinduksi dengan galaktosamin (Kashaw, 2011). Kemudian pada penelitian tentang senyawa filantin dan hipofilantin yang terdapat pada tumbuhan meniran (*Phyllanthus amarus*) mempunyai aktivitas sebagai antitumor pada dosis 50 mg/kg dan 100 mg/kg (Aminul, 2008).

Berdasarkan keterangan dilakukan penelitian tentang uji imunomodulator beberapa subfraksi ekstrak etil asetat meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan metoda *carbon clearance* dan diperoleh perbandingan subfraksi mana yang memiliki aktivitas imunomodulator pada herba *Phyllanthus niruri*. Metoda *carbon clearance* digunakan untuk mengukur aktivitas sel-sel fagosit untuk membunuh organisme patogen yang masuk kedalam tubuh.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental (*Experimental Research*), karena belum ada yang pernah meneliti tentang pengujian aktivitas subfraksi ekstrak etil asetat meniran dengan metoda *carbon clearance*.

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan adalah kertas saring, botol coklat, *rotary evaporator*, kromatografi kolom *flash*, vial, bejana (*chamber*) dan plat KLT, desikator, pipet tetes, lampu UV 365 nm, spektrofotometer

UV-Vis, alat suntik, gelas ukur, timbangan hewan, spatel, jarum oral, timbangan analitik, mikroskop, wadah (botol), lumpang dan stamper, kaca objek, gunting bedah.

#### Bahan

Bahan yang digunakan adalah herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.), *n*-heksan, etil asetat, metanol, etanol, aquadest, pewarna Giemsa, minyak emersi, NaCl fisiologis, Na-CMC, larutan dapar fosfat, asam asetat 1% dan mencit putih jantan dengan berat 20-30 gram.

**Prosedur Kerja****Pengambilan Herba Meniran**

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diambil di Simpang Tanjung, Padang Pariaman, Sumatera Barat. Bagian tanaman meniran yang digunakan untuk penelitian antara lain : daun, batang, buah, bunga dan biji.

**Pembuatan Subfraksi Meniran**

Sebanyak 1.5 kg sampel kering meniran yang telah bersih dan dirajang halus dimaserasi dengan menggunakan 3 liter pelarut etil asetat dalam botol coklat selama 5 hari sambil sesekali dikocok. Setelah 5 hari perendaman, diambil maseratnya dengan cara disaring dan perendaman dilanjutkan sampai 3 kali. Gabungan maserat yang didapat diuapkan secara *in vacuo* sehingga didapat ekstrak kental dengan menggunakan alat *rotary evaporatory*.

Setelah didapatkan ekstrak kental, kemudian dilakukan uji karakteristik ekstrak menggunakan kromatografi lapis tipis. (Depkes RI, 1995).

Ekstrak kental dipisahkan berdasarkan peningkatan derajat kepolaran dengan menggunakan alat kromatografi *flash*. Dengan membuat campuran silika pereabsorpsi sebanyak 80 gram ekstrak kental meniran dan silika pereabsorpsi sebanyak 80 gram, kemudian dirotary menggunakan rotary *in vacuo* sampai tidak ada lagi pelarut. Setelah itu masukkan silika gel 100 gr kedalam kolom yang dibasahi dengan *n*-heksan yang bertujuan agar permukaan silika menjadi datar. Lalu sediaan pereabsorpsi dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam kolom agar permukaannya datar dan tidak berongga. Kemudian dilakukan elusi dengan menurut metode SGP (*standart gradien polarity*) menggunakan eluen:

<i>n</i> -heksan 100%	1000 mL
<i>n</i> -heksan : etil asetat (19:1)	1000 mL
<i>n</i> -heksan : etil asetat (9:1)	500 mL

<i>n</i> -heksan : etil asetat (4:1)	500 mL
<i>n</i> -heksan : etil asetat (2:1)	500 mL
<i>n</i> -heksan : etil asetat (1:1)	500 mL
<i>n</i> -heksan : etil asetat (1:4)	500 mL
Etil asetat 100 %	500 mL

**Penyiapan Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah mencit putih jantan dengan berat 20-40 gram berumur 2-3 bulan yang dikondisikan selama 1 minggu dalam kandang yang baik untuk menyesuaikan lingkungannya.

**Penentuan Dosis**

*Dosis tunggal subfraksi meniran yang digunakan yaitu 100 mg/kg BB (Thompson, 1990).*

**Penyiapan Sediaan Uji****a. Penyiapan Suspensi Karbon Koloid**

Sebanyak 1,6 gram tinta cina yang telah dikeringkan, suspensikan dengan 25 ml tween 80 (1%) b/v dalam larutan NaCl fisiologis 0.9 %, sampai didapatkan konsentrasi larutan 64 mg/ml (6.4%).

**b. Penetapan Kadar Karbon**

Tinta cina sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam cawan penguap dan diuapkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Pengeringan kemudian dilanjutkan dalam desikator sampai berat konstan.

**c. Pembuatan Kurva Baku Karbon**

Tinta cina yang telah dikeringkan lalu ditimbang sebanyak 100 mg, didispersikan dalam 100 mL asam asetat sehingga konsentrasi 1 mg/mL. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 2, 3, 4, 5, dan 6 mL, kemudian dicukupkan dengan asam asetat 1% hingga volume 50 mL, sehingga didapatkan kadar karbon 40, 60, 80, 100, dan 120 µg/mL. Dari masing-masing kadar tersebut

dipipet sebanyak 4 mL, selanjutnya ditambahkan darah mencit yang diambil dari ujung vena ekor sebanyak 25 µL. Setelah dihomogenkan, ukur adsorbannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm. Plot adsorben yang diperoleh dengan kadar karbon, digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Sebagai blanko digunakan darah mencit dan aquadest saja.

#### d. Penyiapan Suspensi Subfraksi Meniran

Larutan uji dibuat suspensi dalam tween 80 (1%) karena subfraksi meniran sukar larut dalam air.

### Pengujian Aktivitas Subfraksi Meniran

#### a. Uji Bersihan Karbon pada Sel Fagosit

Mencit dibagi menjadi 9 kelompok dengan dosis tunggal 100 mg/kgBB. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit jantan. Hewan dikelompokkan sebagai berikut:

- Kelompok I : diberi sediaan Tween 80 (1%)
- Kelompok II : diberi sediaan suspensi subfraksi 1
- Kelompok III : diberi sediaan suspensi subfraksi 2
- Kelompok IV : diberi sediaan suspensi subfraksi 3
- Kelompok V : diberi sediaan suspensi subfraksi 4
- Kelompok VI : diberi sediaan suspensi subfraksi 5
- Kelompok VII : diberi sediaan suspensi subfraksi 6
- Kelompok VIII : diberi sediaan suspensi subfraksi 7
- Kelompok IX : diberi sediaan suspensi subfraksi 8

Tiap kelompok diberikan secara oral satu kali sehari selama 6 hari berturut-turut. Setelah pemberian suspensi sampel pada masing-masing kelompok, ujung ekor mencit dipotong dan darah ditampung pada plat tetes yang ditambahkan NaEDTA hingga

homogen. Darah diambil 25 µL dan dilisis dengan 4 mL asam asetat 1%. Contoh darah pertama ini dipakai sebagai blanko (menit ke-0). Kemudian 0,1 mL/10 g BB suspensi karbondisuntikkan secara intravena pada bagian ekor, darah mencit diambil 25 µL selama menit ke 3, 6, 9, 12, dan 15 setelah penyuntikkan. Masing-masing darah dilisis dengan 4 mL asam asetat 1% dan diukur serapannya pada panjang gelombang 650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Setelah dua belas jam, kemudian hewan tersebut dikorbankan dan limfanya diambil untuk ditimbang.

Dihitung konstanta fagositosis (K) dan indeks fagositosis (IF) dengan menggunakan rumus:

$$(K) = \frac{\text{Log } A(n) - \text{Log } A(n-1)}{t(n-1) - t(n)}$$

Keterangan :

K = Konstanta fagositosis  
A = Absorban pada waktu ke-0  
t = Waktu (3, 6, 9, 12 dan 15)  
n = Periode pengambilan (1, 2, 3, 4,)

$$(IF) = \frac{\text{Konstanta fagositosis mencit Z}}{\text{Konstanta fagositosis rata-rata}}$$

Keterangan:

IF = Indeks fagositosis  
Mencit Z = Mencit yang telah diperlakukan dan ditentukan harga konstanta fagositosisnya

Indeks fagositosis dari tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol.

#### b. Penghitungan Jumlah Sel Leukosit

Sebanyak 1 mL darah ditetaskan pada kaca objek lalu ratakan dengan kaca objek lain untuk memperoleh lapisan darah homogen, kering anginkan dan tambahkan metanol biarkan 5 menit kemudian ditambahkan larutan Giemsa (encerkan dengan air suling) sebanyak 10 tetes biarkan 20 menit, bilas dengan aquadest mengalir dan

kering anginkan. Hitung jumlah sel eusinofil, neutrofil batang, limfosit monosit di bawah mikroskop perbesaran 40x dengan menggunakan minyak emersi.

#### c. Penghitungan Sel Limfosit Limpa

Timbang 50 mg limpa dari mencit yang telah dikorbankan, kemudian suspensikan ke dalam 3 mL larutan dapar fosfat pH 7,4. Suspensi limpa diambil sebanyak 20  $\mu$ L dan diteteskan di atas kaca objek, lalu biarkan mengering. Setelah itu fiksasi dengan metanol selama dua menit, kemudian dibilas dengan aquadest dan dikering anginkan.

Untuk pewarnaan, preparat yang telah difiksasi lalu diwarnai dengan cara meneteskan pewarna Giemsa sebanyak 5 tetes yang sebelumnya telah diencerkan dengan aquadest 1:10. Biarkan kontak selama 5 menit, lalu bilas dengan aquadest, kemudian dikering anginkan. Preparat yang telah diwarnai, dihitung jumlah limfositnya di bawah mikroskop perbesaran 40x dengan menggunakan minyak emersi.

#### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan metode analisis variansi (anova) satu arah kemudian dilanjutkan dengan analisis Duncan.

### HASIL DAN DISKUSI

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Dari 10 kg meniran segar diperoleh 1.5 kg sampel kering meniran.
2. Dari 1.5 kg sampel kering meniran diperoleh ekstrak etil asetat kental sebanyak 178 gram.
3. Dari 178 gram ekstrak etil asetat kental yang dikromatografi kolom diperoleh subfraksi sebanyak :
  - a. Subfraksi 1 *n*-heksan 100 % 89,5 gram
  - b. Subfraksi 2 *n*-heksan : etil asetat (19:1) 8,5 gram
  - c. Subfraksi 3 *n*-heksan : etil asetat (9:1) 4 gram
  - d. Subfraksi 4 *n*-heksan : etil asetat (4:1) 4,2 gram
  - e. Subfraksi 5 *n*-heksan : etil asetat (2:1) 7,6 gram
  - f. Subfraksi 6 *n*-heksan : etil asetat (1:1) 9,7 gram
  - g. Subfraksi 7 *n*-heksan : etil asetat (1:4) 8,3 gram
  - h. Subfraksi 8 etil asetat 100% 4,5 gram
4. Untuk identifikasi dari semua subfraksi meniran:  
Pemerian: warna hijau tua, bau

- menyengat dan tajam, rasa pahit  
Kelarutan: praktis tidak larut dalam air
5. Hasil penghitungan kadar karbon tinta cina didapatkan tinta cina dengan kadar karbon 22,46%.
  6. Hasil penghitungan kurva kalibrasi karbon diperoleh persamaan linear  $y = 0,0058x - 0,0084$  dengan  $r = 0,9940$ .
  7. Pengukuran nilai adsorban darah mencit putih yang mengandung karbon setelah pemberian beberapa subfraksi meniran selama enam hari dengan dosis tunggal 100 mg/kg BB diperoleh penurunan berturut-turut setiap selang waktu uji pada masing-masing dosis. Harga indeks fagositosis pada subfraksi 1, subfraksi 2, subfraksi 3, subfraksi 4, subfraksi 5, subfraksi 6, subfraksi 7, dan subfraksi 8 hasilnya lebih besar dari satu ( $IF > 1$ ). Nilai IF terendah diperoleh pada subfraksi 8 yaitu 1,02654 sedangkan nilai IF tertinggi pada subfraksi 3 yaitu 1,64622.
  8. Penghitungan jumlah komponen sel leukosit darah mencit setelah pemberian beberapa subfraksi meniran selama enam hari,

menunjukkan peningkatan jumlah komponen sel leukosit tertinggi pada kelompok subfraksi 3 dengan dosis tunggal 100 mg/kgBB.

9. Penimbangan bobot limpa dan bobot limpa relatif mencit setelah pemberian beberapa subfraksi meniran selama enam hari, menunjukkan peningkatan bobot tertinggi pada subfraksi 3 dengan dosis tunggal 100 mg/kgBB.
10. Penghitungan jumlah sel limfosit pada limpa mencit setelah pemberian beberapa subfraksi meniran dengan dosis tunggal 100 mg/kgBB selama enam hari, menunjukkan peningkatan jumlah sel pada setiap kelompok subfraksi.

Bagian dari herba meniran yang digunakan pada penelitian adalah daun, batang, biji dan bunga dari spesies *Phyllanthus niruri* L. dengan ciri-ciri daun berwarna hijau, batang tidak berkayu, bunga dan biji berwarna hijau.

Sampel segar 10 kg meniran dibersihkan dan dibuang akarnya dari tanaman. Kemudian sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C untuk menghilangkan kadar airnya. Setelah kering sampel digrinder sehingga diperoleh sampel kering sebanyak 1.5 kg meniran yang lebih halus. Metoda ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Dengan cara ini sampel sebanyak 178 gram dapat diekstraksi dalam jumlah yang lebih banyak, tidak memerlukan peralatan khusus, pengerjaannya mudah dan sederhana, serta tanpa pemanasan sehingga perubahan kimia terhadap senyawa-senyawa tertentu dapat dihindari.

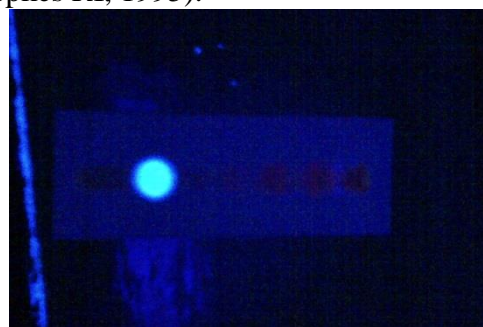
Proses ekstraksi menggunakan etil asetat sebagai pelarut, karena dapat melarutkan senyawa semi polar yang akan digunakan sebagai pengujian selanjutnya. Sehingga dapat mengurangi jumlah senyawa non polar dan polar yang tidak ingin ditarik oleh pelarut tersebut.

Ekstraksi sampel dilakukan selama lima hari dengan tiga kali pengulangan sehingga zat aktif tertarik secara maksimal.

Rendaman sampel dikocok tiga sampai empat kali sehari agar pelarut mengalir berulang-ulang masuk ke seluruh permukaan sampel, sehingga bahan ekstraktif lebih cepat berpindah ke dalam pelarut (Ansel, 1989; Voight, 1994).

Maserat kemudian diuapkan dengan destilasi vakum untuk mengurangi tekanan udara pada permukaan, sehingga akan menurunkan tekanan uap pelarut yang selanjutnya akan menurunkan titik didihnya. Hal ini dapat mengurangi kemungkinan terurainya senyawa yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000). Selanjutnya pelarut yang masih tersisa diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental. Tekanan udara di dalam labu rotary dijaga sebesar  $\pm 215$  milibar. Apabila tekanannya kurang dari 215 milibar maka titik didihnya akan naik sehingga dikhawatirkan akan merusak sampel, sedangkan apabila tekanannya lebih dari 215 milibar akan terjadi *bumping* sehingga menimbulkan busa yang sulit dikontrol. Ekstrak kental etil asetat meniran diperoleh sebanyak 178 gram.

Setelah didapatkan ekstrak kental, kemudian dilakukan uji karakteristik ekstrak menggunakan kromatografi lapis tipis (Depkes RI, 1995).



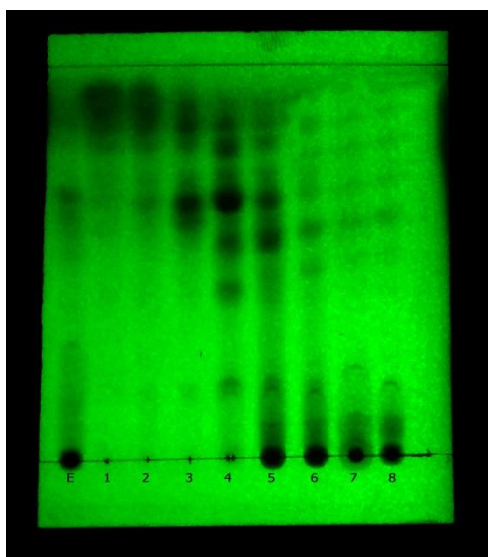
Ekstrak kental dipisahkan berdasarkan peningkatan derajat kepolaran dengan menggunakan alat kromatografi kolom *flash*. Dengan membuat campuran silika pereabsorpsi sebanyak 80 gram ekstrak kental meniran dan silika pereabsorpsi sebanyak 80 gram, kemudian dirotary menggunakan rotary in vacuo sampai tidak ada lagi pelarut. Setelah itu masukkan silika gel 100 gr kedalam kolom yang dibasahi dengan n-heksan yang



bertujuan agar permukaan silica menjadi datar. Lalu sediaan preabsorpsi dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam kolom agar permukaannya datar dan tidak berongga. Kemudian dilakukan elusi dengan menurut metode SGP (*standart gradien polarity*) menggunakan eluen *n*-heksan 100 %, *n*-heksan:etil asetat (19:1), *n*-heksan:etil asetat (9:1), *n*-heksan:etil asetat (4:1), *n*-heksan:etil asetat (2:1), *n*-heksan:etil asetat (1:1), *n*-heksan:etil asetat (1:4), Etil asetat 100%. Silika pereabsorpsi digunakan untuk membantu pemisahan senyawa yang masih banyak terdapat pada ekstrak kental meniran menjadi beberapa kelompok senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya.

Keterangan Gambar :

- Ekstrak Etil Asetat
- Subfraksi 1 (*n*-heksan) 100%
- Subfraksi 2 (*n*-heksan:etil asetat) 19:1
- Subfraksi 3 (*n*-heksan:etil asetat) 9:1
- Subfraksi 4 (*n*-heksan:etil asetat) 4:1
- Subfraksi 5 (*n*-heksan:etil asetat) 2:1
- Subfraksi 6 (*n*-heksan:etil asetat) 1:2
- Subfraksi 7 (*n*-heksan:etil asetat) 1:4
- Subfraksi 8 (etil asetat) 100%



Subfraksi yang didapatkan sebanyak 8 subfraksi dimana dosis perlakuan dibuat tunggal yaitu 100 mg/kg. Dosis dibuat dalam bentuk sediaan suspensi dengan penambahan tween 80 (1%) sebagai pembasah. Bahan pembasah ini berfungsi menurunkan

tegangan permukaan bahan dengan air, menggantikan udara di celah-celah partikel ekstrak, mendispersikan partikel-partikel tersebut, dan kemudian menyebabkan terjadinya penetrasi medium dispersi ke dalam ekstrak. Tween ini bersifat inert, sehingga tidak mempengaruhi khasiat zat aktif (Ansel, 1989; Wade & Paul, 2004).

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan. Hal ini karena sistem imun mencit jantan tidak dipengaruhi oleh hormon esterogen seperti halnya pada mencit betina (Baratawidjaya, 2009). Alasan lainnya karena mencit mempunyai fisiologis mirip manusia dan mudah untuk diperlakukan. Mencit-mencit ini diaklimatisasikan selama tujuh hari sebelum perlakuan agar beradaptasi terhadap lingkungan percobaan.

Pada 8 kelompok subfraksi dosis 100 mg/kg, suspensi subfraksi meniran diberikan secara oral kepada mencit selama enam hari berturut-turut, untuk memberikan kesempatan bagi sampel dalam meningkatkan respon imun nonspesifik dan respon imun spesifik. Sedangkan pada kelompok kontrol hanya diberikan tween 80 (1%).

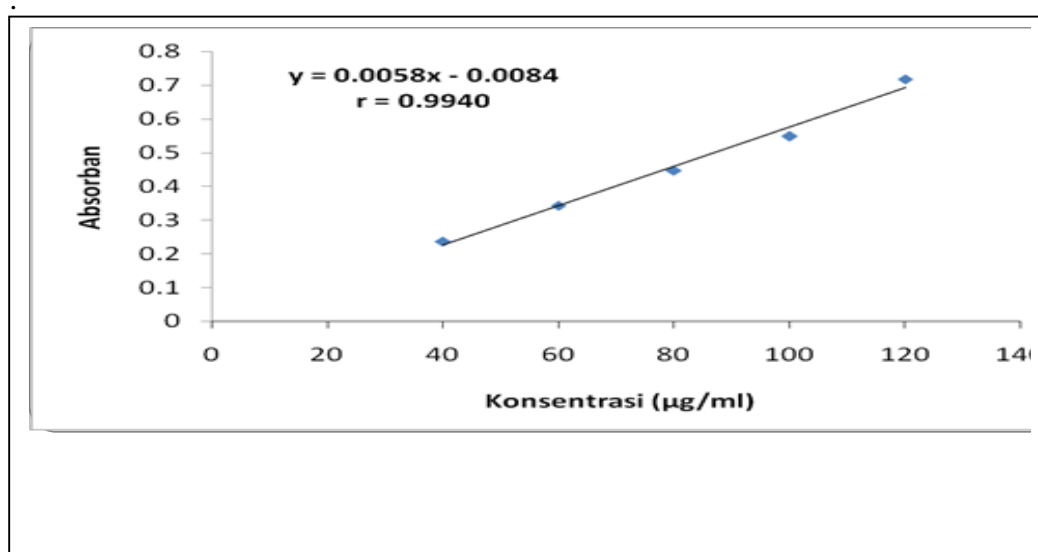
Pengujian respon imun non spesifik dilakukan dengan metoda bersihan karbon (*carbon clearance*) dan penghitungan jumlah sel leukosit dengan metoda hapusan darah. Metoda bersihan karbon merupakan pengujian kemampuan fagositosis dengan menggunakan karbon sebagai antigen yang diberikan secara intravena. Karbon akan berkurang jumlahnya dalam darah seiring pertambahan waktu, karena adanya peristiwa fagositosis oleh sel-sel leukosit terutama neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil (Baratawidjaya, 2009). Sel yang sangat berperan dalam fagositosis adalah limfosit, neutrofil, dan monosit. Kecepatan bersihan karbon dilihat tiap menit ke-3, 6, 9, 12, dan 15. Karbon yang digunakan adalah tinta cina yang telah dikeringkan (Faber Castell 6 Mbh & Co. D-90546). Hal ini karena ukuran partikelnya lebih kecil dan lebih stabil,

sehingga tidak menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah dan paru-paru.

Pada uji penetapan kadar, diketahui kadar karbon tinta cina yaitu 22,46%. Karbon ini dibuat dalam bentuk suspensi dengan penambahan tween 80 (1%) sebagai pembasah. Konsentrasi karbon yang digunakan adalah 6,4% dengan menggunakan NaCl fisiologis sebagai pelarut. Penggunaan NaCl fisiologis bertujuan agar kondisi sediaan suspensi karbon sama dengan kondisi tubuh mencit (isotonis).

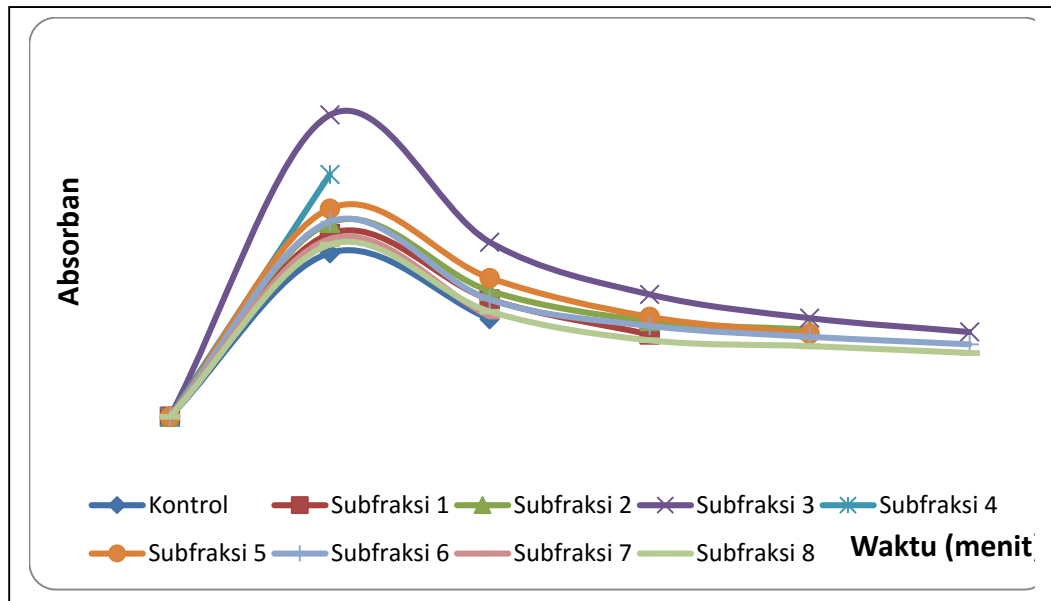
Nilai absorban diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang

gelombang 650 nm, setelah sebelumnya dibuat kurva kalibrasi untuk melihat hubungan linear antara konsentrasi karbon dalam darah dengan nilai absorban. Dari kurva baku tersebut diperoleh persamaan regresi serapan dan konsentrasi karbon yaitu  $y = 0,0058x - 0,0084$  dengan  $r = 0,9940$ . Hasil tersebut menunjukkan adanya hubungan linier antara konsentrasi karbon dalam darah mencit putih jantan dengan nilai absorban. Semakin tinggi konsentrasi karbon dalam darah maka akan semakin tinggi pula nilai absorban yang diperoleh. Data lengkap dapat dilihat pada Gambar 1.



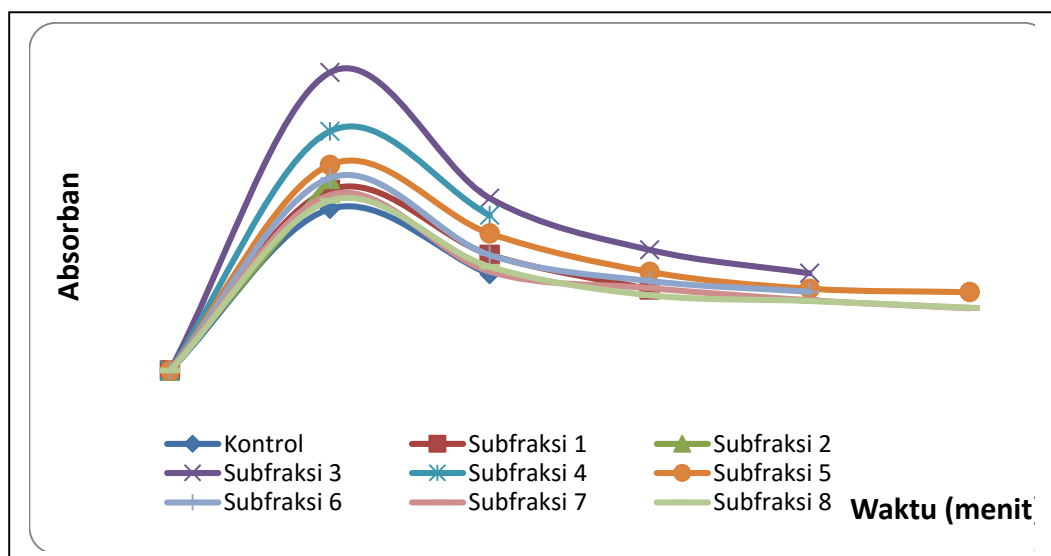
Pada penelitian yang dilakukan, terjadi penurunan nilai absorban pada semua kelompok subfraksi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penurunan nilai absorban terbesar pada dosis tunggal 100 mg/kgBB diperoleh pada subfraksi 3, lalu setelah itu subfraksi 4, subfraksi 5, subfraksi 2, subfraksi 6, subfraksi 1, subfraksi 7, dan subfraksi 8. Semakin menurunnya nilai absorban berarti konsentrasi karbon yang tinggal dalam darah mencit semakin sedikit. Hal ini memperlihatkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas fagositosis pada masing-masing kelompok subfraksi.

Data absorban digunakan untuk menghitung nilai konstanta fagositosis. Konstanta fagositosis merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan kecepatan fagositosis. Semakin besar harga konstanta fagositosis maka semakin tinggi kecepatan bersihan karbon, yang berarti semakin cepat sel fagositik melakukan proses fagositosis. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh subfraksi mengenai terhadap kecepatan eliminasi karbon di dalam darah mencit.



Berdasarkan harga konstanta fagositosis diperoleh nilai indeks fagositosis yang digunakan sebagai parameter pengujian aktivitas imunomodulator. Nilai rata-rata indeks fagositosis menunjukkan aktivitas fagositosis sel-sel fagositik terhadap partikel karbon sebagai antigen akibat pengaruh

pemberian subfraksi meniran. Apabila nilai rata-rata indeks fagositosis lebih besar dari satu ( $IF > 1$ ) menunjukkan zat uji tersebut mempunyai kemampuan imunostimulan (Wirawan & Silman, 1996; Nurliyani, Wayan & Zuheid, 2005; Kresno, 2007).



Data pada gambar 10 memperlihatkan peningkatan nilai indeks fagositosis rata-rata untuk dosis tunggal 100 mg/kgBB pada masing-masing kelompok subfraksi 1, subfraksi 2, subfraksi 3, subfraksi 4, subfraksi 5, subfraksi 6, subfraksi 7 dan subfraksi 8 yaitu lebih besar dari satu ( $IF > 1$ ). Hal ini berarti pada setiap kelompok

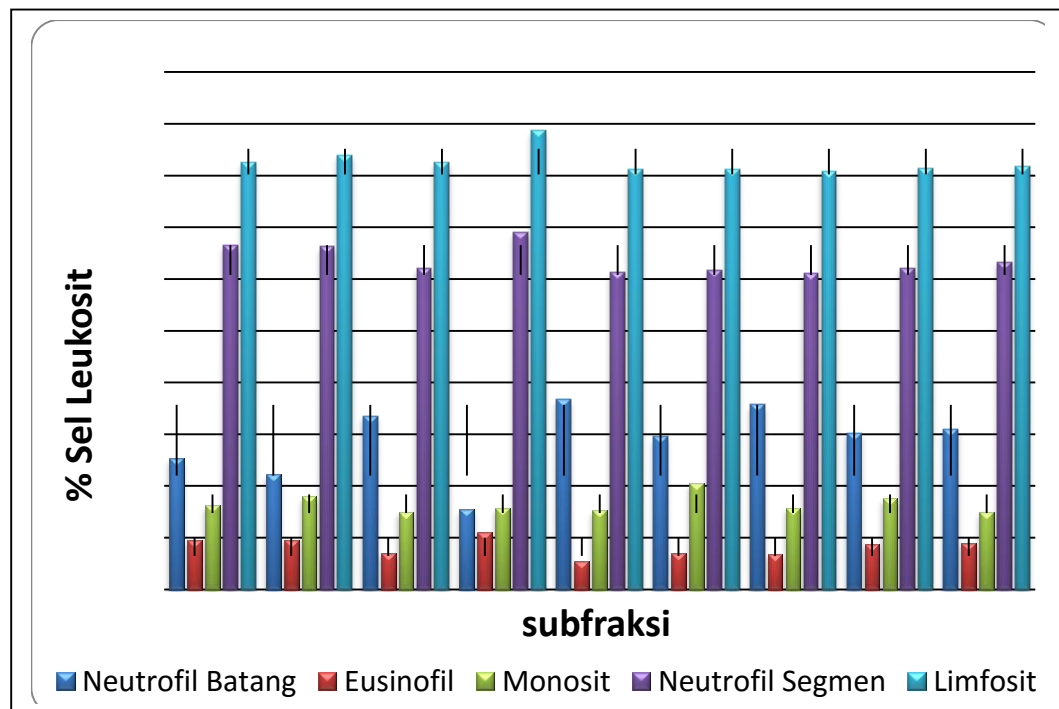
subfraksi meniran mempunyai kemampuan meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap aktivitas fagositosis sel fagositik.

Dari hasil uji statistik menggunakan analisis variansi satu arah terlihat bahwa dosis tunggal 100 mg/kg BB dari masing-masing kelompok subfraksi perlakuan terhadap kontrol tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). Hal ini

berarti kemampuan fagositosis kedelapan kelompok subfraksi tersebut tidak berbeda jauh. Berdasarkan nilai rata-rata indeks fagositosis tiap subfraksi yang diberikan pada dosis tunggal 100 mg/kgBB yang diberikan, terlihat bahwa efek imunostimulan yang paling optimal diberikan oleh kelompok subfraksi 3 dosis 100 mg/kgBB.

Pada penghitungan sel leukosit dengan metoda hapusan darah menggunakan larutan Giemsa sebagai pewarna, kemudian

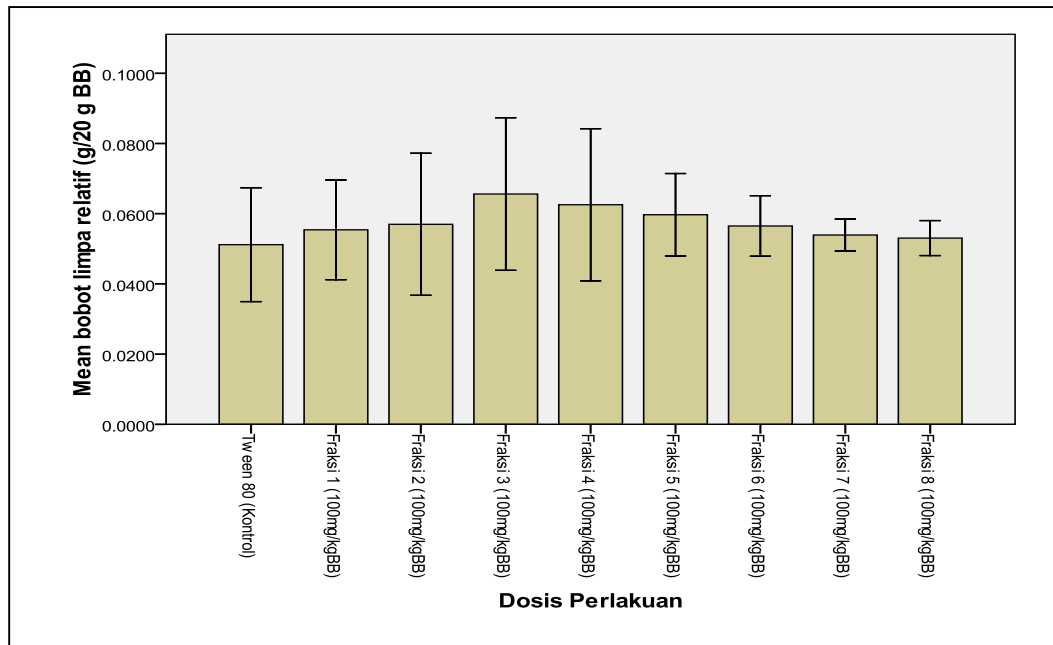
menggunakan minyak emersi sebagai penjelas bentuk sel leukosit terlihat sel neutrofil batang, sel eusinofil, sel monosit, sel neutrofil segmen, dan sel limfosit. Sedangkan sel basofil yang bersifat basa tidak dapat diamati karena sel ini larut dalam pewarna Giemsa. Hasil perhitungan jumlah sel leukosit darah mencit dputih dapat dilihat pada Lampiran 7, tabel VII, gambar 11.



Dari hasil uji statistik menggunakan analisis variansi satu arah, terlihat bahwa efek dosis tunggal 100 mg/kgBB beberapa kelompok subfraksi perlakuan terhadap kontrol berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) pada setiap kelompok subfraksi untuk sel neutrofil batang, eusinofil, neutrofil segmen, dan limfosit, sedangkan tidak berbeda nyata untuk sel monosit. Setelah dilakukan uji lanjut dengan uji berjarak duncan terlihat bahwa pada sel eusinofil, sel neutrofil batang, limfosit dan sel neutrofil segmen

terdapat perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok subfraksi.

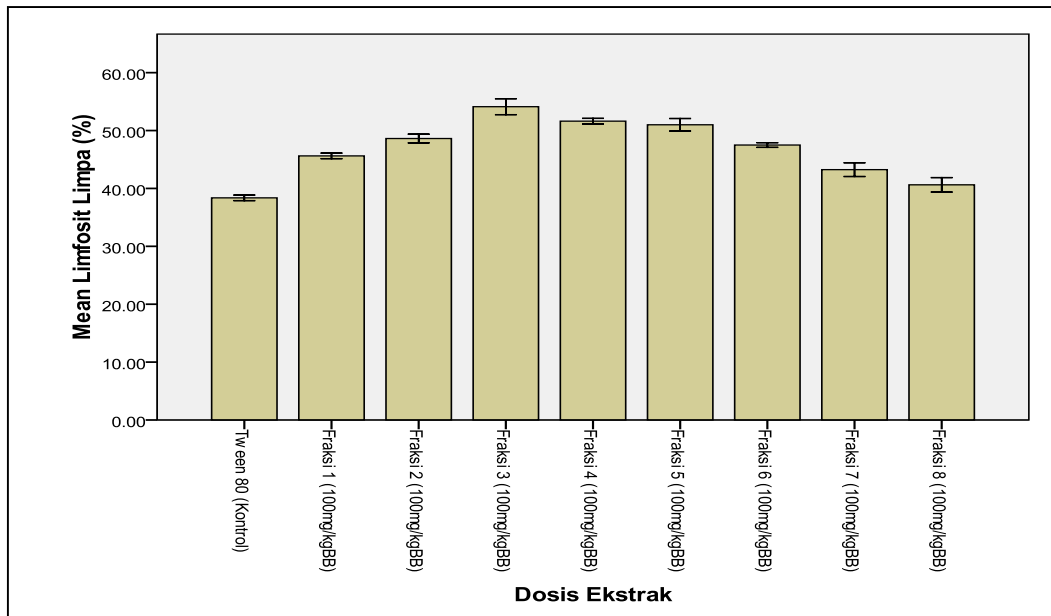
Pengujian uji respon imun spesifik dilakukan dengan menimbang bobot limpa dan penghitungan jumlah sel limfosit pada limpa mencit. Limpa merupakan tempat pembentukan limfosit yang diaktifkan untuk masuk ke dalam darah. Limpa bereaksi terhadap antigen yang terbawa darah dan merupakan organ pembentukan antibodi. Hasil penimbangan bobot limpa dan bobot limpa relatif beberapa subfraksi menurun dapat dilihat pada gambar:



Setelah dilakukan analisis statistik menggunakan anova satu arah, terlihat peningkatan tersebut tidak mempengaruhi bila dibandingkan dengan kontrol ( $P > 0,05$ ). Hasil tersebut menunjukkan kenaikan bobot limpa relatif pada dosis tunggal 100 mg/kg dengan beberapa kelompok subfraksi perlakuan. Peningkatan terjadi berturut-turut pada dosis tunggal 100 mg/kgBB kelompok subfraksi 8, subfraksi 7, subfraksi 1, subfraksi 6, subfraksi 2, subfraksi 5, subfraksi 4, dan subfraksi 3. Dari hasil uji duncan dapat dilihat bahwa bobot limpa pada kelompok kontrol, dosis tunggal 100 mg/kgBB subfraksi 3, subfraksi 4, subfraksi 5, subfraksi 2, subfraksi 6, subfraksi 1, subfraksi 7, dan subfraksi 8 tidak berbeda nyata satu sama lain. Hal ini berarti semakin meningkatnya bobot limpa maka semakin tinggi sel fagositik yang dihasilkan dalam pembentukan antibodi. Peningkatan optimal

didapat pada dosis 100 mg/kgBB kelompok subfraksi 3.

Pada penghitungan jumlah sel limfosit limpa terjadi peningkatan jumlah sel yang ditunjukkan oleh persentase kenaikan jumlah sel limfosit pada setiap kelompok subfraksi. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada gambar 15. Berdasarkan analisis statistik terlihat bahwa efek dosis perlakuan terhadap kontrol berbed secara nyata ( $P < 0,05$ ). Peningkatan sel limfosit limpa diperoleh berturut-turut pada dosis tunggal 100 mg/kg BB pada kelompok subfraksi 8, subfraksi 7, subfraksi 1, subfraksi 6, subfraksi 2, subfraksi 5, subfraksi 4, dan subfraksi 3. Dari hasil uji lanjutan menggunakan uji berjarak duncan dapat diketahui bahwa dosis tunggal 100 mg/kg BB subfraksi 3 berbeda nyata dengan subfraksi 4, subfraksi 5. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada gambar grafik:



Dari data diatas didapatkan dosis tunggal 100 mg/kgBB subfraksi optimal yang dapat meningkatkan jumlah sel limfosit limpa yaitu kelompok subfraksi 3 dosis 100 mg/kgBB.

Peningkatan jumlah sel limfosit pada limpa juga berarti peningkatan pula pada respon imun spesifik. Sel limfosit terdiri dari sel limfosit B dan sel limfosit T. Sel limfosit B akan mengalami proliferasi dan diferensiasi membentuk sel plasma dan sel memori. Sel plasma inilah yang membentuk antibodi yang terbentuk setelah kontak dengan antigen. Untuk membentuk antibodi,

sel plasma perlu melakukan kerja sama dengan sel limfosit T (sel T-helper) (Kresno, 2007; Mutschler, 1991).

Ditinjau dari keempat parameter uji, yaitu kecepatan fagositosis, peningkatan jumlah sel leukosit darah, peningkatan bobot limpa dan bobot limpa relatif, serta peningkatan jumlah sel limfosit limpa, diketahui bahwa subfraksi 3 meniran yaitu dengan perbandingan subfraksi *n*-heksan:etil asetat (9:1) dosis 100 mg/kgBB memiliki aktivitas imunostimulant paling tinggi.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian subfraksi meniran dengan dosis tunggal 100 mg/kg BB pada subfraksi 1, subfraksi 2, subfraksi 3, subfraksi 4, subfraksi 5, subfraksi 6, subfraksi 7, dan subfraksi 8, dapat meningkatkan aktivitas imunostimulan pada mencit putih jantan.
2. Uji respon imun nonspesifik dengan metoda bersihan karbon (*carbon clearance*) memberikan efek optimal pada subfraksi 3 dosis 100 mg/kg BB. Sedangkan dengan metoda penghitungan jumlah komponen sel leukosit darah, menunjukkan perbedaan secara nyata

pada sel limfosit, eosinofil, dan neutrofil segmen pada semua kelompok subfraksi ( $P < 0,05$ ).

3. Uji respon imun spesifik dengan metoda penimbangan bobot limpa dan bobot limpa relatif menunjukkan efek optimal pada subfraksi 3 dosis 100 mg/kg BB ( $P > 0,05$ ). Sedangkan dengan metoda penghitungan sel limfosit limpa juga memberikan hasil optimal pada subfraksi 3 dosis 100 mg/kg BB ( $P < 0,05$ ).

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti pengaruh pemberian subfraksi meniran terhadap sitokin yang mempengaruhi aktivitas fagositosis.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aminul I., Selvan T., Mazumder U.K, and Ghosal S. 2008. Antitumour Effect Of Phyllanthin and Hypophyllanthin From Phyllanthus amarus Against Ehrlich Ascites Carcinoma In Mice. *Pharmacologyonline* 2: 796-807.
- Anief M. 1995. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktik*. (Ed.V). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Anonim. 2009. *Marker Compounds of Select Ayurvedic Drugs*. Arumbakam : CCRAS
- Anonim. 2007. *Master Document Phyllanthus amarus*. Bangalore : Dept. Quality Control Natural Remedies.
- Anonim. 2012. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste, Italy : ICS-UNIDO.
- Anonim. 2011. *Meniran dan Ragam Informasinya*. Diakses tanggal 12 April 2013. <http://www.diarypengetahuan.blogspot.com>.
- Baratawidjaja, K. 2000. *Imunologi Dasar*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I. 2009. *Imunologi Dasar*, Edisi VIII. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Bellanti, J.A. 1993. *Immunologi III*. Washington, D.C: Georgetown University School of Medicine.
- Burmester, G.R. and Pezzetto, A.P. 2003. *Color Atlas of Immunology*. New York: Thieme Stuttgart.
- Darwin, E. 2006. *Imunologi dan infeksi*. Padang: UNAND Press
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia edisi III*. Jakarta: Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia edisi I*. Jakarta : Depkes RI.
- Francisco, A., Bonilla., Raif, S. and Geha. 2005. Are You Immunodeficient?. *Journal of Allergy and Immunology*.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan* (Edisi II). Bandung: Penerbit ITB.
- Hariana, A. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hawley, L. and Ruebush, M. 2004. *Microbiology/ Immunology*. United States of America: Kaplan Medical Inc.
- Heyne, K. 2001. (in Indonesian). *Tumbuhan Berguna Indonesia [Useful Indonesian Plants]*. Jilid III. Penerjemah: Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Irawan, D. W. 2011. *Pengaruh Phyllanthus niruri L (Flavonoid) Pada Sistem Imun Tubuh*. (Skripsi). Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Jayasinha.P. 1999. *Pitakawa, a Literature Survey*. Colombo, Sri Lanka : Information Services centre, Industrial Technology Institute.
- Jindal, S.K. 2004. Immunostimulation, Does it works in COPD?. *CHEST Journal*, 126, 5, 1406-1408.
- Kardinan, Agus dan Kusuma, Fauzi R. 2007. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Agro Media Pustaka.
- Kashaw V., Nema1, Amit K., Agarwal, Abhinav. 2011. Hepatoprotective Prospective Of Herbal Drugs and Their Vesicular Carriers—A Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* vol. 2: 1-15. India
- Kindt, T.J., Goldsby, R.A. and Osborn, B.A. 2007. *Kuby Immunology*. New York: WH Freeman and Company.
- Kresno, S.B. 1991. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi kedua. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kresno, S.B. 2007. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi IV, Cetakan ke-3. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Kusmardi, Kumala, S. dan Triana., E.E. 2007. Efek Imunomodulator Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag. *Makara Kesehatan*, 11, 2, 50-53.
- Mackinnon, L.T. 1999. *Advances in Exercise Immunology*. United States: Human Kinetics.

- Mathur, R. 2011. Antimicrobial Effect of *Phyllanthus niruri* on Human Pathogenic Microorganisms. *International Journal of Drug Discovery and Herbal Research* 1(4) : 234-238.
- Murugaiyah, V., Chan, K. 2009. *Mechanisms of Antihyperuricemic Effect of Phyllanthus niruri and its Lignan Constituents*. *Journal of Ethnopharmacology*. University Sains Malaysia.
- Nurliyani, Wayan, T.A. and Zuheid, N. 2005. Respon Antibodi dan Aktivitas Fagositosis Makrofag Peritoneal Mencit yang Diberi Protein Susu Kuda Pasteurisasi dan Fermentasi. *Media Kedokteran Hewan*, 21, 2, 51-57.
- Pinchuk, G. 2002. *Immunology*. New York USA: The McGraw Hill Companies.
- Playfair, J.H.L. and Chain, B.M. 2001. *Immunology at A Glance* (7<sup>th</sup> edition). London: Blackwell Publishing.
- Radji, M. 2010. *Imunologi dan Virologi*. Edisi I. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Rajakannan, V, Sripathi, MS, Selvanayagam S, Velmurugan D. 2003. Phyllanthin from the plant *Phyllanthus amarus*. *Acta Crystallogr* E59:203–205.
- Rinki, Sonkar. 2011. Immunomodulatory Activity of Triphala Megaext. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol 2 (2). Sagar Institute of Pharmaceutical Sciences.
- Sagar, P., Anubha, Kumar, Sunil, S. 2010. Quantitative determination of phyllanthin in *Phyllanthus amarus* by highperformance thin layer chromatography. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 2-7.
- Sjahrurachman, A., Sukmana, N., Setiati, S., Munazir, Z., Rubiana, H., Nelwan, Lesmana dan Dianiati. 2004. Pemberian Terapi Imunomodulator Herbal. *Jurnal HTA Indonesia*, 37-40.
- Sharma, Priyanka, Parmar, Jyoti, Verma, Preeti, Goyal, PK. 2009. Anti-tumor Activity of *Phyllanthus niruri* (a Medicinal Plant) on Chemical-induced Skin Carcinogenesis in Mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 10 : 1-6.
- Subowo. 1993. *Imunobiologi*. Bandung : Penerbit Angkasa Bandung.
- Sudarsono. 1998. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Taylor. L. 2003. *Herbal Secrets of the Rainforest*, (2<sup>nd</sup> ed.), Sage Press, Inc.
- Thakur, Mayank, B., Shilpi and Dixit, V. K. 2006. Immunomodulatory Activity of *Chlorophytum borivilianum* Sant. F. India : Department of Pharmaceutical Sciences, Dr H.S. Gour Vishwavidyalaya, Sagar, Madhya Pradesh.
- Thompson, E.P. 1990. *Bioscreening of drug, evaluation technique & pharmacology*. New York: Weinheim Basel Cambridge
- Udupa, A.L. 2010. Diuretic activity of *Phyllanthus niruri* (Linn.) in rats. *HEALTH* Vol.2, No.5, 511-512.
- Virella, G. 2007. *Medical imunologi*. (6th edition). New York: Informa Healthcare USA Inc.
- Wagner, H. and Jurcic. K. 1991. Assay for Immunomodulation and Effect on Mediator of Inflammation. *Methods Inplant Biochemistry*. Vol 6. ISBN.201-202.
- Wirawan, S. dan Erwin, S. 1996. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana*. Edisi II. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Yogendrasinh, Sunita, Solanki, Jain, M. 2010. Immunomodulatory Activity of Ayurvedic Plant Aparajita (*Clitoria Ternatea* L.) In Male Albino Rats. *Global Journal of Science Frontier Research* vol. 10 : 1-10.
- Zlabinger, G.J., Nohammer, C., Bohmig, G.A., dan Menzel, J.E. 1994. Mode of action in immune cells. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology*, 120, 17-18.



## TINJAUAN AKUMULASI SEFTRIAKSON DARI DATA URIN MENGGUNAKAN ELEKTROFORESIS KAPILER PADA PASIEN GANGGUAN FUNGSI GINJAL STADIUM IV

Muslim Suardi<sup>1)</sup>, Raveinal<sup>2)</sup>, Putri Siska Oviadita<sup>1)</sup>  
Fakultas Farmasi Universitas Andalas<sup>1</sup>, RSUP DR M Djamil Padang<sup>2</sup>,  
Kampus Unand Limau Manis Padang. Email: siskaovia@gmail.com

### ABSTRAK

Pengaruh kerusakan ginjal terhadap akumulasi seftriakson diteliti setelah pemberian 2 gram/hari injeksi intravena seftriakson kepada 5 pasien (3 perempuan dan 2 laki-laki) yang mengalami gangguan fungsi ginjal stadium empat (klirens kreatinin 16-30 mL/menit). Pengaturan dosis seftriakson yang tepat bagi pasien dapat ditentukan setelah akumulasi diketahui. Urin pasien dikumpulkan dari waktu 0-2; 2-4; 4-6; 6-20; 20-22 dan 22-24 setelah pemberian obat dan seftriakson dianalisis menggunakan elektroforesis kapiler pada potensial 10 kV. Hasil penelitian didapatkan nilai waktu paruh eliminasi ( $t_{1/2}$ ), K dan  $D_{\text{kumulatif}}$  yaitu  $13,44 \pm 1,8$  jam,  $0,051/\text{jam}$  dan  $1015,15 \pm 15,93$  mg. Jumlah fraksi dosis obat seftriakson (f),  $D_{\text{maks}}$  dan  $D_{\text{min}}$  yaitu 0,29 (29%),  $2822,14 \pm 26,56$  mg dan  $822,14 \pm 14,33$  mg. Nilai  $C_{\text{maks}}$  dan  $C_{\text{min}}$  yaitu  $239,16 \pm 7,73$  mg/L dan  $69,67 \pm 4,17$  mg/L. Nilai klirens obat (Cl),  $AUC_0$ , dan dosis pemeliharaan (MD) yaitu 0,61,  $3298,45 \pm 28,71$  mg.jam/L,  $160 \pm 5,6$  mg/L dan  $46,97$  mg/jam. Karena waktu paruh eliminasi lebih panjang dan akumulasi seftriakson yang besar, pengaturan dosis baik dosis awal maupun dosis pemeliharaan seftriakson untuk pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat diperlukan yaitu sebesar  $46,97$  mg/jam atau 1,1 gram/hari.

**Kata kunci:** seftriakson, gangguan fungsi ginjal stadium empat, akumulasi.

### PENDAHULUAN

Seftriakson merupakan antibiotika golongan sefalosporin generasi ketiga. Seftriakson banyak digunakan untuk terapi infeksi yang disebabkan *Citrobacter*, *E. Coli*, *Neisseria*, *Proteus*, *Morganella* dan *Serratia* yang telah resisten terhadap sefalosporin generasi pertama dan generasi kedua. Seftriakson dapat digunakan untuk terapi meningitis, infeksi gastrointestinal, infeksi pada bronkitis kronis, infeksi saluran napas, dan *pelvic inflammatory disease*. Mekanisme kerja seftriakson sebagai antimikroba adalah dengan menghambat sintesa dinding sel mikroba, yang dihambat ialah enzim *transpeptidase* tahap ketiga dalam rangkaian reaksi pembentukan dinding sel. Seftriakson diekskresikan terutama melalui ginjal 33-67% dan sisanya dimetabolisme di hati dan dikeluarkan bersama feses (McEvoy, 2008).

Ginjal merupakan organ yang berpengaruh terhadap farmakokinetika obat, karena sebagian besar darah melewati ginjal, hipertonisitas medulla ginjal sehingga obat dan metabolitnya mudah terkonsentrasi dalam ginjal dan obat terkonsentrasi dalam sel-sel tubulus ginjal sebelum diekskresikan ke dalam urin (Sukandar, 1997).

Gangguan fungsi ginjal adalah suatu keadaan yang mengakibatkan penurunan kemampuan ginjal untuk melakukan eliminasi zat-zat yang tidak diperlukan lagi di dalam tubuh (Wariantio, 2011).

Perubahan farmakokinetik yang terjadi pada gangguan fungsi ginjal adalah perubahan pada parameter-parameter yang meliputi laju ekskresi obat, konstanta eliminasi (K), waktu paruh obat ( $t_{1/2}$ ), dan klirens ginjal (Suryawati, 1984).

Klirens ginjal suatu obat didefinisikan sebagai volume darah yang dapat dibersihkan dari obat tersebut oleh ginjal per satuan waktu, sehingga sebenarnya nilai klirens ginjal ini merupakan suatu ukuran yang menggambarkan kemampuan ginjal untuk membersihkan obat dari tubuh. Klirens ginjal merupakan hasil proses-proses filtrasi glomeruler dan sekresi maupun reabsorpsi di sepanjang tubuli renal (Suryawati, 1984).

Laju ekskresi obat dalam urin menunjukkan konsentrasi obat dalam plasma. Faktor-faktor yang mempengaruhi konsentrasi obat dalam plasma yaitu fungsi ginjal untuk obat-obat yang mengalami eliminasi dengan cara ekskresi melalui ginjal, fungsi hati untuk obat-obat yang mengalami metabolisme di hati, fungsi jantung menentukan besar volume distribusi obat, interaksi obat dan ikatan protein mempengaruhi konsentrasi obat dalam tubuh (Shargel, 2004).

Manfaat data urin ini berhubungan erat dengan penyesuaian dosis terapi obat yang dieliminasi terutama melalui ginjal, selain itu tidak adanya intervensi kepada pasien menyebabkan pengambilan data urin ini tidak mengganggu kenyamanan pasien (Sukandar, 1997).

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit menular disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur, dan protozoa (Gibson, 1966).

Penanganan infeksi sering diatasi dengan penggunaan antibiotik. Dari hasil penelitian tentang penggunaan antibiotik yang telah dilakukan oleh Lestari dkk (2011) di bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang diketahui bahwa jenis

antibiotik yang digunakan di urutan tertinggi yaitu seftriakson (31,43%), dan di urutan kedua sefotaksim (20,95%).

Melalui survey penulis, pemberian seftriakson di bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang pada semua pasien yaitu 1x2 gram sehari. Untuk pasien dengan kemampuan fungsi ginjal yang menurun dibutuhkan pemberian dosis yang sesuai dengan tingkat kerusakan ginjalnya, Atas dasar tersebut penulis merasa tertarik melakukan penelitian yang berjudul Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Data Urin Menggunakan Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan fungsi ginjal stadium empat.

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah terjadi akumulasi seftriakson, adakah pengaruh kondisi pasien terhadap laju eliminasi seftriakson, dan bagaimanakah pengaturan dosis seftriakson yang tepat bagi pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat.

Berdasarkan hal diatas maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah seftriakson yang diekskresikan, kecepatan eliminasi dan akumulasi seftriakson yang terjadi, serta pengaruh kondisi pasien terhadap laju eliminasi seftriakson. Dengan diketahuinya akumulasi seftriakson yang terjadi, maka pengaturan dosis seftriakson yang tepat bagi pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat dapat ditentukan. Penelitian ini memberikan manfaat bagi Apoteker dan tenaga medis untuk dapat mengetahui laju eliminasi obat pada pasien dengan tingkat fungsi ginjal, selain itu bermanfaat juga bagi berkembangnya ilmu pengetahuan yang dapat menggunakan teknologi seperti elektroforesis kapiler.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari 2013 hingga bulan Mei 2013 di bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang dan Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

### Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan alat elektroforesis kapiler. Sampel urin diambil dari pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat di instalasi penyakit dalam RSUP.DR.M.Djamil Padang. Urin yang diambil kemudian dianalisis dengan elektroforesis kapiler. Baku pembanding yang digunakan adalah seftriakson murni. Data yang didapatkan dari elektroforegram selanjutnya diolah dan didapatkan nilai  $D_u$  kumulatif, kemudian dianalisis sehingga didapatkan nilai kecepatan eliminasi,  $t_{1/2}$  eliminasi, fraksi akumulasi obat ( $f$ ), indeks akumulasi ( $R$ ), jumlah maksimum obat dalam tubuh ( $D_{maks}$ ), jumlah minimal obat dalam tubuh ( $D_{min}$ ), konsentrasi maksimum obat ( $C_{maks}$ ), konsentrasi minimum obat ( $C_{min}$ ), klirens obat ( $CL$ ), konsentrasi plasma ( $C_p$ ), *maintenance dose* ( $MD$ ) dan area di bawah kurva ( $AUC$ ).

### Kriteria Inklusi dan Eksklusi

#### Kriteria Inklusi

Pasien dewasa yang berumur 20 – 65 tahun, menderita gangguan fungsi ginjal stadium empat yang memperoleh terapi seftriakson di Instalasi Rawat Inap bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M Djamil Padang dan mempunyai data nilai klirens kreatinin.

#### Kriteria Eksklusi

Pasien dewasa yang tidak berumur 20 – 65 tahun, tidak menderita gangguan fungsi ginjal stadium empat, tidak memperoleh terapi seftriakson di Instalasi Rawat Inap bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M Djamil Padang dan tidak mempunyai data nilai klirens kreatinin.

### Penetapan Kriteria Sampel

Sampel yang akan dianalisis adalah urin pasien yang menderita gangguan fungsi ginjal stadium empat yang memperoleh terapi seftriakson di Instalasi Rawat Inap bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M Djamil Padang dan mempunyai data nilai klirens kreatinin.

### Penyiapan Alat dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan adalah elektroforesis kapiler (merk Agilent 7100, panjang kapiler 56 cm, diameter kapiler 75 mikrometer dengan detektor UV) vial, gelas ukur, beaker glas, pipet mikro, corong, masker, sarung tangan, botol penampung urin, saringan *whatmann* 0,2  $\mu$ , kertas perkamen, kertas pH, kertas saring, *tissue*, spatel, neraca analitik, spektrofotometri UV dan *Speed* 0,1  $\mu$ .

#### Bahan

Bahan yang digunakan adalah seftriakson murni, aqua bidestilata, natrium tetraborat, natrium hidroksida dan urin pasien.

### Prosedur Penelitian

#### Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Larutan induk disiapkan dengan melarutkan 10 mg seftriakson murni dalam 100 mL aquadest. Kemudian 1 mL larutan induk ditambahkan aquabidestilata hingga 10 mL. Panjang gelombang serapan maksimum seftriakson diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV pada rentang 200 – 400 nm.

#### Pembuatan Larutan Buffer

Buffer yang digunakan adalah buffer natrium tetraborat pH 9 dengan konsentrasi 50 mM dengan pKa 9,24. Buffer dibuat dengan melarutkan 0,3092 natrium tetraborat dalam 80 mL aqua bidestilata kemudian ditambahkan NaOH hingga pH

buffer 9, cukupkan hingga 100 mL dengan menambahkan aqua bidestilata.

#### Pengujian Larutan Standar

Larutan induk standar dibuat dari seftriakson murni. Larutan standar seftriakson disiapkan dengan melarutkan 10 mg seftriakson murni dalam 100 mL aquadest. Kemudian dari larutan induk diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 6, 10, 12, 16, dan 18  $\mu\text{g/mL}$ . Sebelum diinjeksikan kapiler dibilas dengan air 0,5 menit, natrium hidroksida selama 2 menit, air 0,5 menit dan buffer 2 menit. Sampel diinjeksikan dengan metode hidrodinamik selama 4 detik dengan tekanan 0,5 Psi, kemudian ditambahkan buffer Na tetraborat (pH 9) 50 mmol, dengan potensial 10 KV dan dideteksi dengan UV pada panjang gelombang 241,2 nm.

#### Pemulihan Sampel

Diambil 1 mL larutan induk yang mengandung seratus mikrogram seftriakson ditambahkan ke dalam 1 mL sampel urin kemudian diencerkan dengan aquadest sampai 10 mL. Kemudian, dianalisis dengan elektroforesis kapiler dengan cara yang sama dengan pengujian larutan standar seftriakson.

#### Pengujian Sampel

Pengumpulan urin dilakukan selama 24 jam. Urin disimpan dalam wadah tertutup rapat dan volume diukur. Kemudian urin disimpan dalam *refrigerator* sebelum dianalisis. Sampel urin disaring menggunakan kertas saring dan 0,14 mL urin ditambahkan aquadest sampai 10 mL. Sampel yang telah disiapkan, dianalisis dengan elektroforesis kapiler. Prosedur analisis yang dilakukan sama dengan cara pengujian larutan standar seftriakson.

#### Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan standar. Laju eliminasi diperoleh dari persamaan regresi eksponensial antara jumlah urin dibagi waktu ( $D_u/t$ ) dengan waktu ( $t$ ) titik tengah pengumpulan sampel. Parameter farmakokinetik lain seperti fraksi obat, nilai  $D_{\text{maks}}$ ,  $D_{\text{min}}$ ,  $C_{\text{maks}}$ ,  $C_{\text{min}}$ , nilai  $R$ ,  $Cl$ ,  $C_p^0$ ,  $MD$  dan  $AUC_0$  dapat dihitung menggunakan rumus.

## HASIL DAN DISKUSI

### Hasil

Tabel 1. Hasil perhitungan kurva larutan standar Seftriakson

Data	Hasil
$\lambda_{\text{maks}}$ (nm)	241,2
Per. Regresi	$y = 3,3231x - 8,9$
$r^2$	0,994
Waktu Migrasi (menit)	18
SD	0,53
LOD ( $\mu\text{g/mL}$ )	0,478
LOQ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,594

#### Keterangan:

$\lambda_{\text{maks}}$	=	panjang gelombang serapan maksimum (nm)
SD	=	simpangan baku
LOD	=	Limit of Detection (batas terkecil analit terdeteksi oleh alat ( $\mu\text{g/mL}$ ))
LOQ	=	Limit of Quantitation (batas terkecil analit didalam sampel ( $\mu\text{g/mL}$ ))

Tabel 2. Hasil data dasar dan pemeriksaan klinik pasien

No	Data	Rerata (SD)
1	Jumlah pasien (orang)	5
2	Jenis kelamin:	
	a) Pria	2
	b) Wanita	3
3	Umur (tahun)	60 (3,8)
4	Berat Badan (Kg)	56 (3,7)
5	Tinggi (cm)	156,6 (8,8)
6	Indek massa tubuh (IMT)	21,07(3,2)
7	Tekanan darah sistolik	115,6 (5,3)
8	Tekanan darah diastolik	67 (4)
9	K <sup>+</sup> (mmol/L)	3,54 (0,94)
10	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	129,8 (5,6)
11	Gula darah puasa (mg/dL)	102,05 (10,1)
12	Protein total (g/dL)	5,36 (2,00)
13	Albumin (g/dL)	1,62 (0,9)
14	Globulin (g/dL)	2,67 (1,15)
15	SGOT (U/L)	76,33 (6,17)
16	SGPT (U/L)	188,8 (9,7)
17	Ureum darah (mg/dL)	80,9 (6,3)
18	Creatinin Darah (mg/dL)	2,48 (0,78)
19	Ca <sup>2+</sup> (mmol/L)	0,45(0,6)
20	Cl darah (mmol/L)	100,5 (5,7)
21	PT(Protombin time) (detik)	61,8
22	Hemoglobin (g/dL)	11,85 (1,9)
23	Leukosit (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	16,25 (2,32 )
24	Limfosit (%)	34,5 (5,8)
25	Trombosit (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	158,5 (7,2)
26	Hematocrit (%)	39,5 (6,2)

Tabel 3. Hasil analisa perhitungan parameter farmakokinetik pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat

No	Parameter	Rerata (SD)
1	CrCl (mL/mnt)	22,71 (2,4)
2	K (/jam)	0,051 (0,11)
3	$t_{1/2}$ (jam)	13,44 (1,8)
4	Krenal (/jam)	0,04(0,1)
5	Knon-renal (/jam)	0,013 (0,05)
6	Du kumulatif (mg)	1015,15(15,93)
7	Nilai akumulasi (f)	0,29 (0,27)
8	Waktu terjadi akumulasi (hari)	8 (1,41)
9	Dmaks (mg)	2822,14 (26,56)
10	Dmin (mg)	822,14 (14,33)
11	Indeks akumulasi (R)	1,40 (1,06)
12	Cmaks (mg/L)	239,16 (7,73)
13	Cmin (mg/L)	69,67 (4,17)
14	Klirens Seftriakson (L/jam)	0,61 (0,15)
15	AUC (mg jam/L)	3298,45 (28,71)
16	Konsentrasi plasma (mg/L)	169,5 (6,50)

## Keterangan:

- CrCl= klirens kreatinin (mL/mnt)
- K= tetapan laju eliminasi (/jam)
- $t_{1/2}$ = waktu paruh obat (jam)
- Krenal= tetapan laju ekskresi ginjal (/jam)
- Knon-renal= tetapan laju eliminasi selain ekskresi ginjal (/jam)
- Du kumulatif= jumlah kumulatif seftriakson tidak berubah yang diekskresi dalam urin selama 24 jam (mg)
- f= fraksi seftriakson yang tertinggal
- Dmaks= jumlah maksimum seftriakson dalam tubuh (mg)
- Dmin= jumlah minimum seftriakson dalam tubuh (mg)
- Cmaks= konsentrasi maksimum seftriakson dalam plasma (mg/L)
- Cmin= konsentrasi minimum seftriakson berada dalam plasma (mg/L)
- Klirens seftriakson= volume cairan (mengandung seftriakson) yang dibersihkan dari seftriakson per satuan waktu (L/jam)
- AUC= area dibawah kurva (mg jam/L)

## Pembahasan

Panjang gelombang serapan maksimum seftriakson yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV adalah 241,2 nm. Perhitungan standar kurva kalibrasi seftriakson sebanyak lima konsentrasi yaitu 6, 10, 12, 16, dan 18 µg/mL diperoleh persamaan  $Y = 3,3231x - 8,9$  dengan nilai  $R = 0,994$  dan waktu migrasi seftriakson yang dianalisis dengan menggunakan elektroforesis kapiler adalah

18 menit. Berdasarkan hasil perhitungan dari kurva kalibrasi seftriakson diperoleh nilai SD (standar Deviasi) 0,53 , LOD (*limit of detection*) dan LOQ (*limit of quantitation*) masing-masing adalah 0,478 dan 1,594 µg/mL. *Recovery* sampel telah dilakukan dan didapatkan hasil *recovery* rata-rata yaitu 93,64%.

Sebagian besar seftriakson diekskresikan dalam jumlah tertentu dalam bentuk utuh melalui ginjal (Baeur, 2006). Dosis obat tersebut butuh penyesuaian yang

hati-hati apabila diberikan terhadap pasien dengan fungsi ginjal yang telah menurun, pada pasien tersebut akumulasi dapat meningkat dengan cepat bila tidak disesuaikan dengan keadaan pasien fungsi ginjal. Untuk menentukan jumlah akumulasi seftriakson dalam tubuh pasien terlebih dahulu kita harus menentukan laju ekskresi obat lewat urin ( $dD_u/dt$ ). Laju ekskresi obat lewat urin ( $dD_u/dt$ ) tidak dapat ditentukan melalui percobaan segera setelah pemberian obat. Dalam praktek, urin dikumpulkan selama 24 jam dan konsentrasi obat dianalisis. Kemudian laju ekskresi urin rata-rata dihitung untuk tiap waktu pengumpulan. Harga ( $dD_u/dt$ ) rata-rata digambar pada suatu skala semi logaritmik terhadap waktu yang merupakan harga tengah (titik tengah) waktu pengumpulan urin (Shargel, 2004).

Faktor-faktor tertentu dapat mempersulit untuk mendapatkan data urin yang sah. Beberapa faktor tersebut adalah: Suatu fraksi yang bermakna obat asal harus diekskresi dalam urin. Teknik penetapan kadar harus spesifik untuk obat asal dan tidak boleh dipengaruhi oleh metabolit-metabolit obat yang mempunyai struktur kimia yang sama. Pengambilan cuplikan urin harus sering untuk mendapatkan gambaran kurva yang baik. Cuplikan urin hendaknya dikumpulkan secara berkala sampai hingga semua obat diekskresi. Suatu grafik kumulatif obat yang diekskresi vs waktu akan menghasilkan kurva yang mendekati asimtot (waktu tak terhingga). Perbedaan pH urin dan volume dapat menyebabkan perbedaan ekskresi urin yang bermakna. Subjek hendaknya diberitahu pentingnya untuk memberikan cuplikan urin yang lengkap (dengan pengosongan kandung kemih yang sempurna).

Jumlah pasien yang ada yaitu lima pasien yang terdiri dari dua pasien laki-laki dan tiga pasien perempuan, dengan rata-rata umur pasien  $60 \pm 3,8$  tahun dan bobot badan rata-

rata pasien  $56 \pm 3,7$  Kg serta indeks massa tubuh (IMT) rata-rata  $21,07 \pm 3,2$ , menurut WHO (2008), indeks massa tubuh rentang 18,5-22,9 menunjukkan berat badan pasien normal (tidak obesitas). Perhitungan semua parameter farmakokinetik di dalam penelitian ini dihitung masing-masing pasien kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan sesuai jumlah pasien. Serum kreatinin rata-rata yang didapatkan dari pemeriksaan laboratorium kelima pasien adalah  $2,48 \pm 0,78$  mg/dL, nilai kreatinin serum yang didapatkan ini lebih tinggi dari nilai normal yaitu 0,5-0,9 mg/dL. Klirens kreatinin rata-rata yang didapatkan melalui metoda *Cocroft and Gault* (Baeur, 2008) yaitu  $22,71 \pm 2,4$  mL/mnt (termasuk gangguan fungsi ginjal stadium empat). Hal ini sesuai dengan BNF (2009) mengenai rentang nilai kreatinin klirens untuk gangguan fungsi ginjal stadium empat (stadium IV) adalah 15-29 mL/mnt, penelitian lain (Patel *et.al*) mendapatkan nilai kreatinin klirens untuk gangguan fungsi ginjal moderat yaitu  $25,5 \pm 5$  mL/mnt dengan serum kreatinin  $3,3 \pm 2,3$  mg/dL. Nilai klirens kreatinin rata-rata pasien sebesar 22,71% tersebut menunjukkan bahwa hanya sekitar 22,71% fungsi laju filtrasi glomerulus dari ginjal untuk mengekskresikan obat. Perubahan laju filtrasi glomerulus dapat menggambarkan perubahan fungsi ginjal. Ginjal merupakan organ yang penting dalam pengaturan kadar cairan tubuh, keseimbangan elektrolit dan pembuangan-pembuangan metabolit sisa obat dari tubuh. Kerusakan atau degenerasi fungsi ginjal akan mempunyai pengaruh pada farmakokinetika obat. Bila laju filtrasi glomerulus terganggu atau menurun akan menyebabkan akumulasi cairan dan produk-produk nitrogen darah dalam tubuh yang berlebihan. Pada umumnya suatu penurunan filtrasi glomerulus akan mengakibatkan perpanjangan waktu eliminasi dari obat yang digunakan (Shargel, 2004).

Tabel 4. Data Dasar dan Pemeriksaan Klinik Pasien

N o	Pasien	J K	Umur (tahun)	BB (kg)	Tinggi (cm)	IMT (Kg/m <sup>2</sup> )	TD	Diagnosa	Obat
1	Pasien 1	Pr	60	50	150	22,2	110/60	CKD stg IV, DM tipe 2, CHF stg III	Inj.seftriakson 1x2gr, Novorapid, katofil 3x6,25 mg, furosemide 1x40mg, IVFD Nacl 0,9% 12 jam
2	Pasien 2	Lk	53	50	160	19,53	90/60	CKD stg IV, CHF stg II	IVFD Nacl 0,9% 12 jam, Inj. Seftriakson 1x2g, Furosemid 1x 40 mg, kaptopril
3	Pasien 3	Pr	56	55	160	21,48	108/65	CKD stg IV, DM type 2	IVFD Nacl 0,9%, Novorapid 3x8 Sc, Domperidon 3x1 gr, pct 3x1g, sukralfat 3x1g
4	Pasien 4	LK	65	65	-	-	170/80	CKD stg IV, hipertensi	IVFD Nacl 0,9%,pct 3x500mg, inj. Seftriakson 1x2g, Katopril2x2,5g,
5	Pasien 5	Pr	66	60	-	-	100/70	CHF stg II, CKD stg IV, Ulkus peptikum	IVFD Nacl 0,9%/8jam, Inj. Seftriakson 1x2g, dexametason 3x5mg, pct 3x500mg
6			$\bar{x} = 60$	$\bar{x} = 56$	$\bar{x} = 156,6$	$\bar{x} = 21,07$	$\bar{x} = 115,6/67$		
7			SD= 3,8	SD= 3,7	SD= 8,8	SD= 3,2	SD= 5,3/4		

Hasil perhitungan jumlah kumulatif obat (Du kumulatif) rata-rata yaitu  $1015,15 \pm 15,93$  mg, dengan nilai K rata-rata yaitu  $0,051 \pm 0,11$ /jam dan waktu paruh obat ( $t_{1/2}$ ) rata-rata yaitu  $13,44 \pm 1,8$  jam. Waktu paruh obat yang didapatkan lebih panjang dibandingkan literatur yang menyebutkan bahwa waktu paruh seftriakson pada pasien normal yaitu 7,5 jam (Rocephin, 2011). Waktu paruh yang didapat lebih panjang dari literatur dapat disebabkan oleh kecepatan eliminasi yang didapat yaitu 0,051/jam sedangkan menurut literatur untuk pasien normal K yaitu 0,092/jam (Rocephin, 2011). Hal ini dapat dikaitkan dengan penyakit yang diderita oleh pasien, seperti pada pasien 1 yang didiagnosa CHF (*Cardiac Heart Failure*) stadium III dan pasien 2 dan 5 yang

didiagnosa CHF stadium II CHF atau yang biasa disebut gagal jantung adalah ketidakmampuan jantung untuk memompa darah yang adekuat untuk memenuhi kebutuhan jaringan oksigen dan nutrisi. Pada gagal jantung, curah jantung menjadi rendah, curah jantung yang rendah ini mempunyai efek depresan yang sangat besar terhadap ginjal. Ada dua penyebab berkurangnya pengeluaran ginjal pada kondisi gagal jantung yaitu a) menurunnya curah jantung mempunyai kecenderungan untuk menurunkan filtrasi glomerulus oleh ginjal, b) berkurangnya aliran darah ke ginjal menyebabkan pembentukan angiotensin, angiotensin mempunyai efek langsung terhadap arteriol ginjal sehingga aliran darah yang melalui ginjal menurun, karena itu



ekskresi ginjal berkurang dan terjadi penumpukkan cairan didalam tubuh (Guyton, 1990). Berdasarkan literatur tersebut, pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal beserta gangguan fungsi jantung akan memperlambat waktu paruh obat yang diekskresikan melalui ginjal dan memperburuk prognosis dari pasien tersebut. Literatur lain menyebutkan bahwa pada pasien gangguan fungsi ginjal dengan fungsi jantung normal, volume tubuh total normal, terjadi peningkatan pada tekanan darah atrium, mengurangi pelepasan arginine vasopressin (AVP) melalui reflex Henry-Gauer menurunkan nada simpatik ginjal dan menaikkan atrial peptide-natriuretik, kesemuanya meningkatkan jumlah ekskresi natrium dan urin, sedangkan pada pasien gangguan fungsi ginjal dengan gagal jantung terjadi penumpukkan reflek Henry-Gauer sehingga jumlah ekskresi natrium dan urin menurun yang memperburuk fungsi ginjal yang sudah rusak (Sarraf, 2009). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Brian D (2003), menunjukkan pasien gangguan fungsi ginjal dengan gagal jantung dapat bertahan 36 bulan dibandingkan dengan pasien gangguan fungsi ginjal tanpa gagal jantung yaitu selama 62 bulan.

Selain gagal jantung penyakit lain yang didiagnosa pada pasien yang dapat menyebabkan waktu paruh obat yang didapat semakin lama yaitu DM tipe 2 (nefropati diabetikum) pada pasien 1 dan 2. Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu masalah kesehatan yang berdampak pada produktivitas dan dapat menurunkan kualitas sumber daya manusia yang prevalensinya akan terus meningkat dari tahun ke tahun. DM merupakan penyakit degeneratif yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan oleh penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi (Dipiro, 2008). Diabetes Mellitus dapat menyebabkan komplikasi diantaranya nefropati diabetika yang dapat memperburuk kondisi ginjal pada pasien gangguan fungsi ginjal (Ridha, 2011). Studi Epidemiologi

memperlihatkan, mortalitas kelainan ginjal pada diabetes militus lebih tinggi dibandingkan mortalitas diabetes militus tanpa penyakit ginjal. Penelitian di klinik Joslin selama 8 tahun (1956-1964) menemukan kira-kira 2/3 dari seluruh kematian berhubungan dengan nefropati diabetikum (Sukandar, 1997). Nefropati diabetik merupakan kelainan degeneratif vaskuler ginjal, mempunyai hubungan dengan gangguan metabolisme karbohidrat. Mekanisme nefropati diabetikum ini masih belum jelas tetapi beberapa peneliti mengemukakan hipotesis yaitu terjadi kelainan kapiler glomerulus akibat defisiensi insulin, kelainan yang terjadi adalah penebalan membran basal kapiler glomerulus. Kenaikan permeabilitas kapiler ini menyebabkan kebocoran protein plasma diikuti proteinuria. Proteinuria merupakan pertanda glomerulosklerosis. Observasi dan metode menggunakan data dari 5097 subjek pada UK prospective Diabetes Study menunjukkan bahwa dari 2,3% pasien yang didiagnosa diabetes, 2,8 % nya mengalami mikroalbuminuria (Amanda, 2003). Mikroalbuminuria pada diabetes militus diduga sebagai pertanda penurunan faal ginjal laju filtrasi glomerulus (Sukandar, 1997). Selain itu berdasarkan penelitian Amanda (2003) yang telah disebutkan di atas melalui observasi tersebut, 25-40% berkembangnya kerusakan ginjal menjadi gangguan fungsi ginjal stadium akhir yaitu disebabkan oleh diabetes nefropati.

Seftriakson diekskresikan 67% di ginjal dan sisanya (33%) di hati. Dengan adanya kerusakan hati pada pasien gangguan fungsi ginjal dapat menyebabkan ekskresi obat lebih lama dibandingkan pasien yang hanya mengalami gangguan fungsi ginjal saja. Pada pasien 2, parameter fungsi hati yang bisa dilihat dari pemeriksaan laboratoriumnya yaitu albumin serum, protombin-time, asites, SGOT dan SGPT. Albumin banyak terdapat pada protein plasma manusia, albumin penting untuk mengatur tekanan osmotik yang mana berperan dalam distribusi cairan tubuh antara bagian intravaskular dengan jaringan tubuh.

Albumin merupakan penanda spesifik pada fungsi hati, tetapi tidak terlalu berguna dalam kondisi akut dalam waktu lama (Limdi & Hyde, 2003). Nilai normal albumin pada orang dewasa yaitu 3,8-5,0 g/dL. Protombin time digunakan untuk menetapkan kemampuan untuk membeku darah pada pengukuran dosis warfarin, gangguan fungsi hati, dan keadaan vitamin K didalam tubuh. Rentang kadar PT normal yaitu 12-18 detik (Thapa & Walia, 2007). Asites merupakan akumulasi cairan lymph pada ruang peritoneal. Asites merupakan salah satu gejala yang tampak pada umumnya dari sirosis (Dipiro, 2005). Asites memiliki tiga tingkatan yaitu tingkat 1: asites ringan hanya dapat dideteksi dengan pemeriksaan ultrasound, tingkat 2: asites sedang terlihat sedikit pembengkakan abdomen yang simetris, tingkat 3: asites berat, tampak pembengkakan abdomen yang besar (Moore, 2003). Asites terjadi karena peningkatan *nitric oxide* pada pasien sirosis yang menyebabkan vasodilatasi sistemik, volume

darah pada arterial menurun sehingga mempengaruhi aktivitas sistem renin-angiotensin aldosterone kemudian akan turut mempengaruhi sirkulasi hiperdinamik, retensi sodium dan air serta vasokonstriksi di ginjal sehingga menyebabkan asites (Dipiro, 2005). Melihat patogenesis asites ini, kita juga dapat menghubungkan mengapa penyakit hati bisa memperlambat ekskresi obat pada pasien gangguan fungsi ginjal yaitu karena penyakit hati dapat menimbulkan retensi cairan pada ginjal sehingga waktu paruh lebih panjang.

Child-Pugh Score digunakan untuk meramalkan gangguan fungsi hati yang telah kronik. Parameter nilai untuk child-pugh berdasarkan data pemeriksaan pasien 2 yang ada yaitu serum albumin 3,2 g/dL (2 poin), protombin time 61,8 detik (3 poin), dan Ascites berat (3 poin) yang total nilai Child-pughnya adalah 8 poin. Berdasarkan hasil tersebut maka pasien 2 selain mengalami gangguan fungsi ginjal stadium empat juga mengalami gangguan fungsi hati kelas B.

Tabel 5. Nilai rata-rata semua parameter farmakokinetik yang didapatkan dari lima pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat

No	Pasien	Ke (/jam)	t <sub>1/2</sub> (jam)	CrCl (mL/mn t)	Krena l (/jam)	Knnon- renal (/jam)	Du- kumulatif (mg)
1	Pasien 1	0,045	15,4	21,46	0,04	0,005	1357,74
2	Pasien 2	0,049	14,14	27,46	0,036	0,013	705,78
3	Pasien 3	0,052	13,33	23,71	0,04	0,012	1019,19
4	Pasien 4	0,058	11,95	24,04	0,042	0,016	1322,86
5	Pasien 5	0,055	16,90	16,90	0,037	0,018	1042,31
		$\bar{x} =$ <b>0,051</b> SD= <b>0,11</b>	$\bar{x}$ <b>=13,44</b> SD= <b>1,8</b>	$\bar{x}$ <b>=22,71</b> SD= <b>2,4</b>	$\bar{x}$ <b>=0,04</b> SD= <b>0,1</b>	$\bar{x} = \mathbf{0,013}$ SD= <b>0,05</b>	$\bar{x} = \mathbf{1089,58}$ SD= <b>16,5</b>
7	Pasien normal	0,092	7,5	>90	0,065	0,027	2222,2

Selain parameter Child-Pugh, parameter yang dilihat adalah nilai SGOT dan SGPT pasien. SGOT (Serum Glutamic

Oxaloacetic Transaminase) merupakan enzim yang dijumpai dalam otot jantung dan hati, sementara dalam konsentrasi sedang

dijumpai pada otot rangka, ginjal dan pankreas. Pada penyakit hati, kadarnya akan meningkat 10 kali lebih dan akan tetap demikian dalam waktu yang lama. Pada pasien 2 ini nilai SGOT dari pemeriksaan laboratoriumnya adalah 174 U/, naik 5 kali dari nilai normal yaitu 0-37 U/L. Kondisi yang meningkatkan kadar SGOT (3-5 kali nilai normal) yaitu obstruksi saluran empedu, aritmia jantung, gagal jantung kongestif, tumor hati (metastasis atau primer) (Thapa & Walia, 2007). SGPT (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase) merupakan enzim yang banyak ditemukan pada sel hati serta efektif untuk mendiagnosa destruksi hepatoseluler, nilai normal SGPT yaitu 0-40 U/L. Pada pasien 2 nilai SGPT lebih tinggi dari SGOT yaitu 555 U/L. Pada dasarnya nilai tes SGPT lebih tinggi daripada SGOT pada kerusakan parenkim akut, peningkatan SGPT > 10 kali normal dapat disebabkan oleh nekrosis hati atau hepatitis viral akut (Thapa & Walian, 2007).

Parameter lain yang dapat digunakan untuk menjelaskan mengapa waktu paruh yang didapat lebih panjang dari literatur yaitu perbedaan jenis kelamin, umur, maupun bobot badan. Contohnya pada pasien 2 yang berjenis kelamin laki-laki, berumur 53 tahun, dan berat badan 50 kg, dengan pasien 3 yang berjenis kelamin perempuan, berumur 56 tahun dan berat badan 50 kg. Pada pasien 2 nilai kreatinin klirens (27,46 mL/menit) lebih tinggi dari pada pasien 3 (23,71 mL/mnt), hal ini dikarenakan perbedaan massa otot, aliran darah organ dan banyak cairan tubuh pada pria dan wanita mempengaruhi parameter farmakokinetik obat. Massa otot lelaki lebih banyak dibandingkan massa otot perempuan. Kreatinin merupakan substansi endogen yang terbentuk dari kreatinin fosfat selama metabolisme otot (Shargel, 1988), sehingga produksi kreatinin lebih banyak pada laki-laki dibandingkan wanita.

Perubahan farmakokinetika obat karena faktor usia dilihat dari berkurangnya bobot ginjal (%) pada usia tua (60-80 tahun) sebesar 80%. Pada orang yang berusia di atas 65 tahun, lazimnya lebih peka terhadap obat

dan efek sampingnya, karena perubahan-perubahan fisiologis, seperti menurunnya fungsi ginjal dan metabolisme hati, meningkatnya rasio lemak-air (38-45%) dan berkurangnya sirkulasi darah. Karena fungsi ginjal dan hati sudah menurun, maka eliminasi obat pun berlangsung lebih lambat (Katzung, 2004), umur pasien rata-rata dalam penelitian ini adalah  $60 \pm 3,8$  tahun, sehingga dapat dikatakan terjadi penurunan berat ginjal pada 5 pasien sebesar 80% dan lemak tubuh yang meningkat sebesar 38-35% untuk perempuan dan 36-38% untuk laki-laki yang menyebabkan kemampuan ginjal untuk menampung aliran darah yang akan difiltrasi oleh glomerulus berkurang, hal ini menyebabkan ekskresi obat lebih lama dan waktu paruh obat lebih panjang.

Pada beberapa penelitian dinyatakan bahwa seftriakson dapat menyebabkan *nefrotoxicity* dan *hepatotoxicity* namun kejadian ini hanya terjadi pada beberapa pasien saja. Selain itu percobaan dengan menginduksikan seftriakson kepada mencit dilaporkan tidak dapat menyebabkan teratogen pada mencit tersebut, jadi disimpulkan kalau pemberian seftriakson ini aman untuk ibu hamil. Sementara itu, dalam penelitian *in vitro* menggunakan mikroba (Ames test) atau sel mamalia (lymphoblasts manusia) sistem belum menunjukkan seftriakson menjadi mutagenik (Sean, 2009).

Seftriakson memiliki ikatan protein plasma sebesar 80-95%. Obat-obat yang mengikat protein, lebih tertahan dalam plasma karena obat-obat yang terikat protein tidak dapat berdifusi ke dalam jaringan dan obat yang terikat protein dieliminasi pada laju yang lebih lambat. Obat yang terikat protein memiliki laju eliminasi yang lebih lambat karena hanya sedikit obat bebas yang tersedia untuk filtrasi glomerulus dalam ekskresi lewat ginjal. Karena itu mengakibatkan konsentrasi plasma menjadi lebih tinggi dan volume distribusi (VD) nya menjadi berkurang (Shargel, 2004). Namun pada penelitian ini nilai VD tidak dapat dihitung karena menggunakan data urin sehingga volume distribusi yang digunakan untuk perhitungan dianggap volume

distribusi pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat menurut literatur.

Fraksi dosis obat seftriakson rata-rata yang didapatkan adalah  $0,29 \pm 0,27$ . Ini berarti pada saat akhir pemberian dosis (sebelum pemberian dosis berikutnya) jumlah obat yang tinggal dalam tubuh adalah 29% dari jumlah obat yang ada dari dosis sebelumnya. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan literatur untuk pasien normal yaitu sebesar 0,10 (Rocephin, 2011) dan penelitian yang dilakukan oleh Patel *et.al* yaitu sebesar 0,27 untuk gangguan fungsi ginjal stadium empat. Hasil ini dikarenakan waktu paruh obat yang didapat pada penelitian ini lebih tinggi lebih panjang dibandingkan literatur. Berdasarkan perhitungan yang didapatkan dari fraksi jumlah kumulatif obat juga didapatkan data jumlah obat maksimum rata-rata dan jumlah obat minimum rata-rata dari seftriakson. Dengan menganggap nilai F pemberian IV yaitu 1 dengan nilai  $D_{maks}$  rata-rata  $2822,14 \pm 26,56$  mg serta  $D_{min}$  rata-rata  $822,14 \pm 14,33$  mg serta indeks akumulasi rata-rata obat yaitu  $1,4 \pm 1,06$ . Jika dibandingkan dengan literatur pada pasien normal mempunyai nilai  $D_{maks}$  2222,2 mg dan  $D_{min}$  222,2 mg, jumlah maksimum dan minimum obat yang terakumulasi dalam tubuh pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat pada penelitian ini lebih tinggi dari literatur, hal ini disebabkan fraksi jumlah kumulatif rata-rata obat lebih besar dari literatur. Hasil perhitungan konsentrasi maksimum rata-rata dari obat setelah pemberian dosis obat adalah 239,16 mg/L dan nilai konsentrasi minimum dari obat adalah 69,67 mg/L. AUC rata-rata yang didapat yaitu  $3298,45 \pm 28,71$  mg jam/L, nilai ini lebih besar dibandingkan AUC pasien normal yaitu 1610,30, hal ini disebabkan karena tetapan laju eliminasi/K pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat lebih kecil dibandingkan dengan tetapan laju eliminasi pada pasien normal.

Pada perhitungan jumlah fraksi obat rata-rata yang tinggal dalam tubuh didapatkan bahwa jumlah seftriakson rata-rata yang terakumulasi di dalam tubuh pasien yaitu  $822,14 \pm 14,33$  mg pada hari kelima

pemberian seftriakson, sehingga pada pemberian injeksi seftriakson dengan dosis 1x2 gram sehari akan menyebabkan penumpukan dosis sebesar  $2822,14 \pm 26,56$  mg pada hari keenam dan seterusnya. Hal ini menyebabkan pengaturan dosis sebesar 1x2 gram sehari pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat tidak efektif dan efisien baik dalam segi pemberian terapi pengobatan maupun segi farmakoekonomi serta bisa memperburuk kondisi ginjal pasien sehingga diperlukan pengaturan dosis awal kembali dan dosis pemeliharaan atau *Maintenance dose* (MD). Dosis awal dapat dihitung dengan rumus:

$$C_{av} = \frac{1 \cdot D_0 \cdot 1,44 \cdot t^{1/2}}{Vd \cdot t}$$

Dengan kadar tunak seftriakson 77mg/L, waktu paruh seftriakson 13,44 jam, volume distribusi 11,8 L dan jarak pemberian dosis 24 jam, maka didapat nilai dosis awal seftriakson pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat yaitu 1.126, 73 mg. Dosis pemeliharaan atau *Maintenance dose* (MD) dapat dihitung dari perkalian antara kadar tunak atau *Concentration of Steady State* ( $C_{ss}$ ) dengan klirens obat (Bauer, 2006). Pada keadaan tunak konsentrasi obat tidak dapat bertambah lagi di dalam darah walaupun kita beri obat secara terus menerus asal dosis dan intervalnya tetap. Perubahan ekskresi urin atau klirens kreatinin, perubahan klirens hepatic karena adanya saturasi/kejenuhan pada sistem metabolisme di hati, inhibisi/induksi enzim metabolisme dapat menyebabkan kadar obat dalam darah tidak sesuai dengan yang diperhitungkan (Shargel, 2004). Waktu yang diperlukan untuk mencapai kadar tunak adalah  $7 \times t_{1/2}$  eliminasi yaitu mencapai  $C_{ss}$  sekitar 99% (Shargel, 2004). Perhitungan  $C_{ss}$  ini sangat penting dalam farmakokinetika klinik karena dengan mengetahui kadar tunak kita dapat menyarankan regimen dosis selanjutnya pada pasien (Bauer, 2008). Berdasarkan literatur  $C_{ss}$  seftriakson adalah 77 mg/L dan klirens seftriakson rata-rata yaitu 0,61 L/jam sehingga dosis pemeliharaan untuk pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat yaitu sebesar 46,97 mg/jam atau 1127 mg/24 jam.

Tabel 6. Akumulasi Obat, nilai Dmaks, nilai Dmin, nilai R, nilai Cmaks, nilai Cmin rata-rata lima pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat

No	Pasien	Nilai Akumulasi (f)	Hari terjadi akumulasi	Nilai Dmaks (mg)	Nilai Dmin (mg)	Nilai R (indeks akumulasi)	Nilai Cmaks (mg/L)	Nilai Cmin (mg/L)
1	1	0.34	ke-9	3030.3	1030.3	1.51	256.8	87.31
	2	0.3	ke-9	2857.14	857.14	1.43	242.13	72.64
	3	0.29	ke-7	2816.9	816.9	1.4	238.72	69.22
	4	0.25	ke-6	2666.66	666.66	1.33	226	56.5
	5	0.27	ke-7	2739.72	739.72	1.37	232.18	62.68
		$\Sigma = 1.45$	$\Sigma = 38$	$\Sigma = 14110.72$	$\Sigma = 4110.72$	$\Sigma = 7.04$	$\Sigma = 1195.83$	$\Sigma = 348.35$
		$\bar{x} = 0,29$	$\bar{x} = 8$	$\bar{x} = 2822,14$	$\bar{x} = 822,14$	$\bar{x} = 1,40$	$\bar{x} = 239,16$	$\bar{x} = 697,67$
		<b>SD= 0,27</b>	<b>SD= 1,41</b>	<b>SD= 26,56</b>	<b>SD= 14,33</b>	<b>SD=1,06</b>	<b>SD=7,73</b>	<b>SD= 4,17</b>
2	Pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat menurut literatur	0,24	Hari ke enam	2631,57	631,57	1,31	223,01	53,52
3	Pasien Normal	0,10	Hari kelima	2.222,2	222,22	1,09	164,60	16,46

## KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian mengenai Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Urin menggunakan Elektroforesis Kapiler pada Pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Laju eliminasi (K) rata-rata pada pasien adalah  $0,051 \pm 0,11$ /jam lebih kecil dibandingkan dengan laju eliminasi untuk pasien normal menurut literatur yaitu sebesar 0,092/jam
2.  $t_{1/2}$  rata-rata pasien yaitu  $13,44 \pm 1,8$  jam lebih panjang dibandingkan dengan literatur untuk pasien normal yaitu 8 jam.
3. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa akumulasi seftriakson pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat terjadi pada hari kedua dengan jumlah seftriakson rata-rata yang tertinggal dalam tubuh yaitu  $822,14 \pm 14,33$  mg
4. Pengaturan dosis awal untuk pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat yaitu sebesar  $1 \times 1,1$  gram/hari dilanjutkan dengan dosis pemeliharaan atau *Maintenance Dose* (MD) untuk pasien gangguan fungsi ginjal stadium empat yaitu sebesar 46,97 mg/jam atau 1127 mg/hari.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bapak Pimpinan, Kepala Pendidikan dan Penelitian, Kepala Instalasi Rawat Inap Penyakit Dalam dan Kepala Ruangan Bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. M.

Djamil Padang, yang telah memberikan izin dan fasilitas kepada penulis dalam melakukan penelitian di Instalasi Rawat Inap RSUP Dr. M Djamil Padang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. *British National Formulary 57 Edition*. BMJ Group and RPS Publishing
- Amanda I. Adler, Richard J. Steevens, Sue E. Manley, Rudy W. Bilous, Carole A. CUull, and Rury R. Holman. 2003. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney International*, Vol. 63 pp. 225–232
- Bauer, L. 2006. *Clinical Pharmacokinetics Handbook*. Washington: McGraw Hill.
- Bauer, Larry. 2008. *Applied Clinical Pharmacokinetics*. USA: The McGraw-Hill Companies.
- Deddy, S. P. 2011. *Monografi Seftriakson (Sefalosporin Generasi ketiga)*. Riau: FK UNRI.
- Demikarya. 2006. Ceftriaxone-related Hemolysis and Acute Renal Failure. *Ped.Neph.* 21(5); 733-736.
- Fenty. 2010. Laju Filtrasi Glomerulus Pada Lansia Berdasarkan Tes Klirens Kreatinin dengan Formula Cockroft – Gault ,Cockroft – Gault Standarisasi dan Modification Of Diet In Renal Disease. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Darma.
- Ganong, W.F. 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Gibson, John MD. 1966. *Anatomi dan Fisiologi Manusia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton. 1995. *Fisiologi Manusia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jayesh. 2010. Pharmacokinetics of Ceftriaxone. *Vet. Arhiv.* 80, 1-9.
- Joseph T., DiPiro, Barbara, G., Wells, Gary, C. Yee., Gary R., Matzke, L., Michael, P., Robert, L. and Talbert. 2005. *Pharmacotherapy Handbook 6<sup>th</sup> Ed.* New York: McGraw Hill.
- Joseph, T. DiPiro, Barbara G. Wells, Cecily V. DiPiro, and Terry L. Schwinghammer. 2009. *Pharmacotherapy Handbook 7<sup>th</sup>Ed.* New York: McGraw Hill.
- Katzung, BG. 2004. *Farmakologi dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Lestari, Wulan. 2011. Studi Penggunaan Antibiotik Berdasarkan Sistem ATC/DDD dan Kriteria Gyysens di Bangsal Penyakit Dalam RSUP DR.M.Djamil Padang. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Limdi JK, Hyde GM. 2003. Evaluation of Abnormal Liver Function Test. *Med J*, 79; 307-312.
- McEvoy & Gerald. 2008. *AHFS Drugs Information*. USA: American Society of health system pharmacists.
- Nollet. 2004. Analisa Rhodamin B dan Metanil Yellow dalam Minuman Jajanan Anak SD di Kecamatan Laweyan Kotamadya Surakarta Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Univ. Muhamadiyah.
- Patel H, Chen S, Parsonnet M, Hackman MR, Brooks MA, Konikoff J & Kaplan SA. 2006. Pharmacokinetics of Ceftriaxone in Humans. *Antimic.Agents and Chemother.* vol. 20.

- Patel H, Sugihara JG, Weinfeld RE, Wong GC, Siemsen AW & Berman JS. 1984. Ceftriaxone Pharmacokinetics in Patients with Various Degrees of Renal Impairment. *Antimic.Agents and Chemother.* vol. 25.
- Rochepin. 2011. *Ceftriaxone Sodium*. USA: Hoffmann – La Roche Inc.
- Santoso, Budiono. 1985. Farmakokinetika Klinik. *Cermin Dunia Kedokteran Edisi 37*. 8-12. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan PT. Kalbe Farma.
- Sean, C.S. 2009. *Martindale The Complete Drugs Reference 36<sup>th</sup> Ed.* USA: Pharmaceutical Press.
- Sennang, N., Sulina, Badji, A. & Hardjoeno. 2005. Laju Filtrasi Glomerulus pada Orang Dewasa Berdasarkan Tes Klirens Kreatinin Menggunakan Persamaan Cockcroft-Gault dan Modification of Diet in Renal Disease. *J.Med.Nus* 24(2). 80-84.
- Shargel, L & Andrew BC. 1985. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Klinik Edisi 2 Terjemahan*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Shargel, L. & Andrew BC, Sussanna WU. 2004. *Appllied Biopharmaceutics and Biopharmakokinetics fifth edition*. Boston: Appleton Century Croft.
- Solangi AR, Memon SQ, Khuhawar MY & Bhanger MI. 2007. Quantitative Analysis of Eight Cephalosporin Antibiotiks in Pharmaceutical Product and Urine by Capillary Zone Electrophoresis. *Acta Cromatogr.* No 19.
- Solangi AR, Memon SQ, Mallah A, Memon N, Khuhawar MY & Bhanger MI. 2010. Determination of ceftriaxone, ceftizoxime, paracetamol and diclofenac sodium by capillary zone electrophoresis in pharmaceutical formulations and in human blood serum. *Turk. J. Chem.* 34: 921-933.
- Stockley, I.V. 1996. *Drugs Interaction*. Singapura: University Press Cambridge.
- Sukandar, Enday. 1997. *Nefrologi Klinik edisi II*. Bandung: Penerbit ITB.
- Suryawati, S.1984. *Pengukuran Klirens Ginjal Obat*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Thapa, BR, Walia A. 2007. Liver Function Tests and Their Interpretation. *India J Pediatr.* 74; 63-71.
- Vera-Candioti L, OlivieriA C & Goicoechea HC. 2010. Development of a novel strategy for preconcentration of antibiotik residues in milk and their quantitation by capillary electrophoresis. *Talanta.* 82: 213-221.
- Yan Xu. 1996. *Tutorial Capillary Electrophoresis*. New York: Springer Verlaq.

## TINJAUAN AKUMULASI SEFTRIAKSON DARI DATA URIN MENGGUNAKAN ELEKTROFORESIS KAPILER PADA PASIEN GANGGUAN FUNGSI GINJAL STADIUM V

Muslim Suardi<sup>1)</sup>, Raveinal<sup>2)</sup>, dan Resta Andria<sup>1)</sup>

*Fakultas Farmasi Universitas Andalas<sup>1</sup>, RSUP DR M Djamil Padang<sup>2</sup>  
Kampus Unand Limau Manis Padang. Email: andria.polosh@gmail.com*

### ABSTRAK

Seftriakson merupakan antibiotika golongan sefalosporin generasi ketiga. Kebanyakan sefalosporin diekskresikan dalam bentuk utuh melalui ginjal. Gangguan fungsi ginjal mengakibatkan penurunan kemampuan ginjal melakukan eliminasi zat-zat yang tidak diperlukan tubuh termasuk obat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaturan dosis seftriakson yang tepat dan efektif. Penelitian dilakukan terhadap 6 orang pasien (3 orang laki-laki dan 3 orang perempuan) berumur 18-60 tahun, mendapat terapi seftriakson dan dengan gangguan fungsi ginjal stadium lima (kreatinin klirens <15 mL/menit). Urin pasien dikumpulkan dari waktu 0-2; 2-4; 4-6; 6-20; 20-22 dan 22-24 jam setelah pemberian obat. Urin dianalisis menggunakan elektroforesis kapiler pada potensial 10 kV. Buffer yang digunakan adalah natrium tetraborat pH 9 dengan konsentrasi 50 mM. Panjang gelombang serapan maksimum seftriakson adalah 241,2 nm. Hasil penelitian didapatkan nilai kurva kalibrasi seftriakson  $Y = 3,4069x - 10,487$  dengan nilai  $R^2 = 0,09972$ ,  $SD = 1,41$ ,  $LOD = 0,36\mu\text{g/mL}$  dan  $LOQ = 1,2\mu\text{g/mL}$ . Waktu migrasi seftriakson 18 menit. Nilai waktu paruh eliminasi ( $t_{1/2}$ ),  $K$  dan  $D_u$  kumulatif masing-masing adalah  $26,4 \pm 2,3$  jam,  $0,027/\text{jam}$  dan  $284,4 \pm 7,5$  mg. Fraksi dosis seftriakson yang tertinggal dalam tubuh ( $f$ ),  $D_{\text{maks}}$  dan  $D_{\text{min}}$  yaitu  $0,52$ ,  $4.272,8 \pm 29,2$  mg dan  $2.272,8 \pm 21,3$  mg. Nilai  $C_{\text{maks}}$  dan  $C_{\text{min}}$  yaitu  $341,8 \pm 8,3$  mg/L dan  $181,8 \pm 6$  mg/L. Nilai klirens obat ( $Cl$ ),  $AUC_0^\infty$  dan  $Cp^0$  masing-masing adalah  $0,33$ ,  $6.071 \pm 34,8$  mg.jam/L dan  $160 \pm 5,6$  mg/L. Dosis pemeliharaan yaitu  $25,4$  mg/jam atau  $609,6$  mg/hari.

**Kata kunci:** seftriakson, kreatinin, elektroforesis kapiler, ekskresi.

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menempati urutan penyakit papan atas di Indonesia (Nelwan, 2007). Tingginya angka kejadian infeksi menyebabkan tidak terhindarnya penggunaan antibiotik sebagai salah satu obat untuk infeksi. Hal tersebut meningkatkan peluang terjadinya insiden penggunaan antibiotik yang tidak rasional yang dapat menyebabkan kejadian resistensi antibiotik. Seftriakson merupakan jenis antibiotik yang paling banyak digunakan di bangsal Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang (Lestari, 2011).

Dalam menentukan dosis obat suatu individu, seringkali perlu diberikan perhatian khusus sehubungan dengan kemampuan

tubuh individu untuk mengeliminasi obat yang diberikan. Hal ini dapat ditemukan pada individu dengan usia lanjut, bayi, kelainan fungsi alat-alat eliminasi, atau karena terjadi interaksi dengan obat lain sehingga eliminasinya terhambat. Untuk mengetahui kemampuan tubuh mengeliminasi obat tertentu, pengukuran parameter-parameter kinetika eliminasi merupakan metode yang telah banyak dikenal dan dipergunakan. Pengukuran parameter-parameter ini meliputi kecepatan eliminasi ( $kel$ ), waktu paruh biologis ( $t_{1/2}$ ) dan klirens tubuh total ( $Cl$ ) yang memerlukan pengambilan sampel darah secara serial selama waktu tertentu (Suryawati, 1984).



Seftriakson merupakan antibiotika golongan sefalosporin generasi ketiga. Antibiotik ini memiliki aktivitas yang sangat kuat untuk melawan bakteri gram negatif dan gram positif dan beberapa bakteri anaerob lain termasuk *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, dan *Pseudomonas* (Jayesh, 2010).

Obat-obat yang eliminasinya terutama melalui ekskresi ginjal akan terakumulasi dengan adanya gangguan fungsi ginjal dan dapat menimbulkan efek toksik atau memperburuk keadaan ginjalnya bila aturan dosisnya tidak disesuaikan (Chasani, 2008)

Gangguan fungsi ginjal adalah suatu keadaan yang mengakibatkan penurunan kemampuan ginjal untuk melakukan eliminasi zat-zat yang tidak diperlukan lagi di dalam tubuh (Wariant, 2011). Penurunan kemampuan ginjal pada pasien gagal ginjal ini menjadi alasan perlunya dilakukan penyesuaian dosis obat individu untuk mencegah terjadinya akumulasi obat di dalam tubuh. Secara klinis dosis obat pada pasien yang mengalami gangguan fungsi ginjal disesuaikan berdasarkan nilai klirens kreatinin.

Bioavailabilitas suatu obat dapat diperkirakan dengan menggunakan data ekskresi obat lewat urin. Untuk mendapat perkiraan yang sah, obat harus diekskresi dalam jumlah yang bermakna di dalam urin dan cuplikan urin harus dikumpulkan secara lengkap. Jumlah kumulatif obat yang diekskresikan lewat urin secara langsung berhubungan dengan jumlah total obat terabsorpsi. Di dalam percobaan, cuplikan urin dikumpulkan secara berkala setelah pemberian produk obat. Kadar obat bebas dalam cuplikan urin dianalisa dengan cara yang spesifik. Kemudian dibuat grafik yang menghubungkan kumulatif obat yang diekskresi terhadap jarak waktu pengumpulan. (Shargel, 2004).

Elektroforesis kapiler adalah metode analisis mutakhir yang digunakan untuk memisahkan asam amino, protein, lipid, karbohidrat dan nukleotida dengan resolusi tinggi yang dilakukan pada pipa kapiler berisi buffer. Metode ini mulai digunakan

secara luas untuk aplikasi dalam berbagai bidang seperti bioteknologi, kimia, lingkungan dan analisis farmasi. Elektroforesis kapiler menggunakan listrik bertegangan tinggi yang menyebabkan semua komponen ion atau molekul netral bergerak ke katoda. Deteksi dapat dilakukan dengan teknik pendeteksian spektrometri atau elektrokimia. Teknik pemisahan ini dipengaruhi oleh tegangan listrik, koefisien difusi, panjang dan diameter pipa kapiler serta konsentrasi sampel. Metode ini memiliki efisiensi dan selektivitas yang baik (Anonim, 2010).

Dalam dekade terakhir ini, elektroforesis kapiler secara luas telah digunakan dan menunjukkan teknik pemisahan yang cepat dan tepat. Karena itu, elektroforesis kapiler merupakan teknik yang ideal untuk analisis multikomponen. Elektroforesis kapiler lebih menguntungkan daripada HPLC dalam hal konsumsi pelarut, volume sampel kecil dan analisis waktu lebih pendek (Vera-Candioti *et.al*, 2010). Akan tetapi teknik ini memiliki masalah terhadap hasil jika volume injeksi yang digunakan terlalu kecil (Nollet, 2004).

Data kinetika obat termasuk seftriakson yang digunakan di seluruh dunia selama ini merupakan hasil penelitian dari negara barat, untuk Indonesia sendiri khususnya Sumatera Barat belum pernah dilakukan. Terdapat kemungkinan perbedaan data kinetik antar etnik yang disebabkan adanya perbedaan frekuensi gen dalam populasi yang bersangkutan untuk variasi obat atau karena perbedaan faktor-faktor internal maupun eksternal yang dapat berpengaruh pada proses kinetika (Santoso, 1985). Berdasarkan latar belakang tersebut di atas dan penelitian tentang penyesuaian dosis seftriakson pada pasien gagal ginjal dengan klirens kreatinin kecil dari 15 mL/menit belum pernah dilakukan. Atas dasar inilah sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Data Urin Menggunakan Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan Fungsi Ginjal Stadium Lima.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah seftriakson yang diekskresikan, kecepatan eliminasi, terjadinya akumulasi, dan pengaruh kondisi pasien terhadap laju eliminasi seftriakson pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium lima. Dengan diketahuinya laju eliminasi obat, maka dapat dilakukan penyesuaian

dosis untuk individu, sehingga diharapkan pasien menerima dosis obat yang aman dan efektif. Penelitian ini juga akan bermanfaat sebagai perkembangan ilmu pengetahuan yang memanfaatkan teknologi baru seperti elektroforesis kapiler.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari 2013 hingga bulan Mei 2013 di bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang dan Laboratorium Sentral Fakultas Farmasi Universitas Andalas.

### Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan alat elektroforesis kapiler. Sampel urin diambil dari pasien gangguan fungsi ginjal stadium lima di instalasi penyakit dalam RSUP.DR.M.Djamil Padang. Urin yang diambil kemudian dianalisis dengan elektroforesis kapiler. Baku pembanding yang digunakan adalah seftriakson murni. Data yang didapatkan dari elektroforegram selanjutnya diolah dan didapatkan nilai  $D_u$  kumulatif, kemudian dianalisis sehingga didapatkan nilai kecepatan eliminasi,  $t_{1/2}$  eliminasi, fraksi akumulasi obat ( $f$ ), indeks akumulasi ( $R$ ), jumlah maksimum obat dalam tubuh ( $D_{maks}$ ), jumlah minimal obat dalam tubuh ( $D_{min}$ ), konsentrasi maksimum obat ( $C_{maks}$ ), konsentrasi minimum obat ( $C_{min}$ ), klirens obat ( $CL$ ), konsentrasi plasma ( $C_p$ ), *maintenance dose* ( $MD$ ) dan area di bawah kurva ( $AUC$ ).

### Kriteria Inklusi dan Eksklusi

#### Kriteria Inklusi

Pasien dewasa yang berumur 18–60 tahun, memiliki gangguan fungsi ginjal stadium lima yang memperoleh terapi seftriakson di Instalasi Rawat Inap bangsal

penyakit dalam RSUP Dr. M Djamil Padang dan mempunyai data nilai klirens kreatinin.

#### Kriteria Eksklusi

Pasien dewasa yang tidak berumur 18–60 tahun, tidak memiliki gangguan fungsi ginjal stadium lima, tidak memperoleh terapi seftriakson di Instalasi Rawat Inap bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M Djamil Padang dan tidak mempunyai data nilai klirens kreatinin.

### Prosedur Penelitian

#### Penetapan Kriteria Sampel

Sampel yang akan dianalisis adalah urin pasien yang memiliki gangguan fungsi ginjal stadium lima yang memperoleh terapi seftriakson di Instalasi Rawat Inap bangsal penyakit dalam RSUP Dr. M Djamil Padang dan mempunyai data nilai klirens kreatinin.

### Penyiapan Alat dan Bahan

#### Alat

Alat yang digunakan adalah elektroforesis kapiler (merk Agilent 7100, panjang kapiler 56 cm, diameter kapiler 75 mikrometer dengan detektor UV) vial, gelas ukur, beaker glas, pipet mikro, corong, masker, sarung tangan, botol penampung urin, saringan *whatmann* 0,2  $\mu$ , kertas perkamen, kertas pH, kertas saring, *tissue*, spatel, neraca analitik, spektrofotometri UV dan *Speed* 0,1  $\mu$ .

#### Bahan

Bahan yang digunakan adalah seftriakson murni, aqua bidestilata, natrium tetraborat, natrium hidroksida dan urin pasien.

## Prosedur Penelitian

### Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Larutan induk disiapkan dengan melarutkan 10 mg seftriakson murni dalam 100 mL aquadest. Kemudian 1 mL larutan induk ditambahkan aquabidestilata hingga 10 mL. Panjang gelombang serapan maksimum seftriakson diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV pada rentang 200 – 400 nm.

### Pembuatan Larutan Buffer

Buffer yang digunakan adalah buffer natrium tetraborat pH 9 dengan konsentrasi 50 mM dengan pKa 9,24. Buffer dibuat dengan melarutkan 0,3092 natrium tetraborat dalam 80 mL aqua bidestilata kemudian ditambahkan NaOH hingga pH buffer 9, cukupkan hingga 100 mL dengan menambahkan aqua bidestilata.

### Pengujian Larutan Standar

Larutan induk diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 6, 8, 12, 16 dan 18 µg/mL. Sebelum diinjeksikan kapiler dibilas dengan air 0,5 menit, natrium hidroksida selama 2 menit, air 0,5 menit dan buffer 2 menit. Sampel diinjeksikan dengan metode hidrodinamik selama 4 detik dengan tekanan 0,5 Psi, kemudian ditambahkan buffer Na tetraborat (pH 9) 50 mM, dengan potensial 10 KV dan dideteksi dengan UV pada panjang gelombang 241,2 nm.

### Pemulihan Sampel

Diambil 1 mL larutan induk yang mengandung seratus mikrogram seftriakson ditambahkan ke dalam 1 mL sampel urin kemudian diencerkan dengan aquadest sampai 10 mL. Kemudian, dianalisis dengan elektroforesis kapiler dengan cara yang sama dengan pengujian larutan standar seftriakson.

**Pengujian Sampel**  
Pengumpulan urin dilakukan tiap selang waktu tertentu (urin sewaktu). Urin disimpan dalam wadah tertutup rapat dan volume dari urin kemudian diukur. Kemudian urin disimpan dalam *refrigerator* sebelum dianalisis. Sampel urin disaring menggunakan kertas saring dan 0,14 mL urin ditambahkan aquadest sampai 10 mL. Sampel yang telah disiapkan, dianalisis dengan elektroforesis kapiler. Prosedur analisis yang dilakukan sama dengan cara pengujian larutan standar seftriakson.

### Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi larutan standar. Laju eliminasi diperoleh dari persamaan regresi eksponensial antara jumlah urin dibagi waktu ( $D_u/t$ ) dengan waktu ( $t$ ) titik tengah pengumpulan sampel. Parameter farmakokinetik lain seperti fraksi obat, nilai  $D_{maks}$ ,  $D_{min}$ ,  $C_{maks}$ ,  $C_{min}$ , nilai  $R$ ,  $Cl$ ,  $Cp^0$ ,  $MD$  dan  $AUC_0^\infty$  dapat dihitung menggunakan rumus.

Tabel 3. Data dasar pasien

No.	Data	Rerata (SD)
	Jumlah pasien	
1	Laki-laki (3 orang)	6
	Perempuan (3 orang)	
2	Umur	38,2 (2,7) Tahun
3	Berat badan	57,5 (3,4) Kg
4	Tinggi	158,7 (5,6) cm
5	Sistolik	145 (5)
6	Diastolik	83 (4)
7	IMT	22,8 (2,1) kg/m <sup>2</sup>
8	Kreatinin serum	11,08 (1,4) mg/dL
9	Klirens kreatinin	7,7 (1,2) mL/menit

Tabel 4. Hasil analisis

No.	Data	Rerata (SD)
1	Laju eliminasi (ke)	0,027 (0,073)
2	Waktu paruh ( $t_{1/2}$ )	26,4 (2,3) jam
3	Du kumulatif	284,4 (7,5) mg
4	Nilai akumulasi (f)	0,52 (0,32)
5	Hari terjadi akumulasi	3 (0,8) hari
6	$D_{maks}$	4.272,8 (29,2) mg
7	$D_{min}$	2.272,8 (21,3) mg
8	Indeks akumulasi (R)	2,1 (0,6) mg
9	$C_{maks}$	341,8 (8,3) mg/L
10	$C_{min}$	181,8 (6) mg/L

1. Tabel data yang diperoleh setelah dilakukan pengumpulan sampel urin pasien selama 24 jam sebanyak 6 titik pengumpulan urin dan dianalisis dengan elektroforesis kapiler. klirens obat ( $Cl$ ), Nilai AUC, *maintenance dose* (MD) dan  $CP^0$  adalah nilai rerata klirens  $0,33 \pm 0,25$  L/jam, perhitungan nilai  $AUC_0^{\sim}$   $6.071 \pm 34,8$  mgjam/L, *maintenance dose* (MD) 25,4 mg/jam atau 609,6 mg/hari dan konsentrasi plasma ( $CP^0$ )  $160 \pm 5,6$  mg/L.
2. Parameter farmakokinetika lainnya dengan menggunakan rumus berdasarkan literatur antara lain

## PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan terhadap 6 orang pasien (3 laki-laki dan 3 orang perempuan) dengan umur rata-rata 38 tahun dan mengalami gagal ginjal di bangsal penyakit dalam RSUP DR. M.DJAMIL Padang

Panjang gelombang serapan maksimum seftriakson menggunakan spektrofotometer UV- Visibel adalah 241,2 nm. Kurva standar seftriakson adalah  $3,4069x - 10,487$  dengan nilai  $R^2 = 0,9972$  hasil dapat dilihat pada lampiran 2 gambar 5. Hasil Perhitungan dari kurva kalibrasi diperoleh nilai SD 0,41, LOD 0,36  $\mu\text{g/mL}$  dan LOQ 1,2  $\mu\text{g/mL}$  (lampiran 2, tabel 6).

Dari hasil penelitian diperoleh data yang bervariasi antar pasien, jumlah rata-rata obat kumulatif sampel urin (Du) setelah 24 jam pengambilan sampel yang dianalisis dengan menggunakan alat elektroforesis kapiler untuk pasien adalah 284,4mg, K (kecepatan eliminasi) 0,027/jam serta  $t_{1/2}$  eliminasi 26,4 jam. Jika dibandingkan dengan literatur, nilai kecepatan eliminasi

pasien normal adalah 0,092/jam dan pasien yang mengalami gangguan fungsi ginjal stadium lima seharusnya memiliki nilai K 0,04/jam. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Wise R dan Wright N menunjukkan  $t_{1/2}$  eliminasi yang didapatkan yaitu 17,01 jam. Sementara itu Literatur lain juga menunjukkan bahwa pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium lima memiliki nilai kecepatan eliminasi yaitu 0,04/jam dengan  $t_{1/2}$  15,7 jam (Rochepin, 2011).

Seftriakson diekskresikan di ginjal sebesar 33–67% dalam bentuk utuh melalui filtrasi glomerulus. Apabila ginjal bermasalah maka kemampuan ginjal untuk mengekskresikan obat juga mulai berkurang sehingga akan mempengaruhi kemampuan ginjal untuk mengeliminasi obat. Dari hasil data laboratorium menunjukkan rata-rata nilai kreatinin darah pasien yaitu 11,08 mg/dL yang menunjukkan nilai ini tinggi jika dibandingkan batas normal nya yaitu 0,7–1,2

mg/dL. Kemudian dilakukan penghitungan terhadap nilai klirens kreatinin dari pasien menggunakan rumus Cockcroft and Gault didapatkan nilai klirens kreatinin pasien yaitu 7,7 mL/menit (stadium lima). Nilai klirens

kreatinin pasien ini menunjukkan fungsi laju filtrasi glomerulus dari ginjal untuk mengekskresikan obat. Perubahan dalam laju filtrasi glomerulus dapat menggambarkan fungsi ginjal.

Tabel 9. Pemeriksaan kimia Klinik pasien

No	Data	Pasien 1	Pasien 2	Pasien 3	Pasien 4	Pasien 5	Pasien 6	Rata-rata ( $\bar{X}$ )	SD	Nilai normal
1	Asam Urat (mg/dl)	13	13,3	-	-	-	-	13,15	3,62	0,00 – 7 mg/dL
2	Cl (mmol/L)	101	94	106	103	103	95	100,33	4,47	97 – 111 mmol /L
3	K (mmol/L)	3,3	3,8	5,8	4,9	3,3	3,3	4,06	0,9	3,5 – 5,1 mmol /L
4	Ca (mg / dl)	8,2	7,9		7,5	8,5	7,2	7,86	1,4	8,1 – 10,4 mg/dL
5	Na (mmol /L)	134	124	129	132	137	127	130,5	5,1	136 – 145 mmol/L
6	Gula darah sewaktu	84,84	63,57	80,95	87	79,91	151	91,21	4,27	0,00 – 200
7	Protein total (g/dL)	6,5	5,5	4,3	5,6	6,9	-	5,76	1,2	6,4 – 8,3 g/ dL
8	Albumin (g/dL)	3,1	3,4	2,1	3	3,3	-	2,98	0,86	3,5 -5 g/dL
9	Globulin (g/dL)	3,4	2,2	2,2	2,6	3,6	-	2,8	0,8	
10	SGOT (μL)	19	11	-	-	-	-	15	3,87	0 -37 μL
11	SGPT (μL)	9	12	-	-	-	-	10,5	3,2	0 - 40μL
12	Ureum darah (mg/ dL)	201,2	116,4	163,7	98	81,5	93	125,63	5,01	0 -49 mg/dL
13	Creatinin Darah (mg /dL)	9,7	17,6	17,5	6,1	6,6	9	11,08	1,4	0,7 – 1,2 mg/dL
14	Colesterol total	-	162	-	303	-	-	232,5	15,2	<200
15	Colesterol LDL	-	113,8	-	224,6	-	-	169,2	13	<150
16	Colesterol HDL	-	29	-	48	-	-	38,5	6,2	LK: >55 PR: >65
17	Trigliserida	-	-	-	152	-	-	152		<150
18	Hemoglobin	12,6	11,9	9,3	10,6	10,4	7,5	10,38	1,44	12,00-14,00
19	Hematokrit	25	33,4	26	32	29,7	22	28,02	2,36	37,00-43,00
20	Leukosit	4,5 x10 <sup>3</sup>	11,78 x.10 <sup>3</sup>	7x10 <sup>3</sup>	11,1 x10 <sup>3</sup>	4,39 x.10 <sup>3</sup>	17,7 x10 <sup>3</sup>	9,41 x10 <sup>3</sup>	43,38	5.10 <sup>3</sup> -10.10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
21	Trombosit	149 x10 <sup>3</sup>	378 x10 <sup>3</sup>	222 x10 <sup>3</sup>	171 x10 <sup>3</sup>	117 x10 <sup>3</sup>	122 x10 <sup>3</sup>	193 x10 <sup>3</sup>	196,55	150.10 <sup>3</sup> - 400.10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>

Ikatan protein plasma seftriakson sebesar 80 - 95%. Obat-obat yang mengikat protein, lebih terkumpul dalam plasma karena obat – obat yang terikat protein tidak dapat berdifusi ke dalam jaringan dan obat yang terikat protein dieliminasi pada laju yang lebih lambat. Obat yang terikat protein memiliki laju eliminasi yang lebih lambat karena hanya sedikit obat bebas yang tersedia untuk filtrasi glomerulus dalam ekskresi lewat ginjal. Karena itu mengakibatkan konsentrasi plasma menjadi lebih tinggi dan volume distribusi (VD) nya menjadi berkurang (Shargel, 2004). Namun pada pasien ini tidak terjadi perubahan volume distribusi, karena terjadinya kenaikan pada AUC (area under curve) yaitu 6.071 mg.jam/L dan perubahan tetapan eliminasi yaitu 0,027 jam. Shargel (2004) menyatakan volume distribusi tidak akan berubah kecuali kalau kenaikan AUC tidak disertai dengan perubahan tetapan laju eliminasi. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan

bahwa volume distribusi untuk pasien gagal ginjal adalah 12,5 L. Sedangkan tetapan laju eliminasi pasien gagal ginjal menurut literatur adalah 0,04 (Rocheperin, 2011).

Berdasarkan literatur seftriakson mengikuti farmakokinetika non linier (Joynt, 2000). Farmakokinetika non linier terjadi bila kenaikan dosis atau pengobatan yang kronik dapat menyebabkan penyimpangan pada profil farmakokinetika karena itu obat–obat yang mengikuti farmakokinetika non linier disebut juga farmakokinetika yang bergantung dosis.

Beberapa penyebab yang dapat menunjukkan kinetika yang bergantung dosis dan waktu adalah adanya perubahan pada proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi yang melibatkan sistem enzim atau sistem yang diperantarai pembawa. Untuk beberapa obat yang diberikan pada kadar terapeutik salah satu dari proses tersebut dapat menjadi jenuh.

Tabel 10. Diagnosa dan pengobatan pasien

Pasien	Diagnosa	Obat
1	CKD stg V Hipertensi dg asidosis metabolik Sepsis ec Bronkopneumonia	Seftriakson 1 x 2gram Siprofloksasin 2x200mg Deksametason 3x5mg PCT 3 X 500mg Lasix inj 1 x 1amp As.folat 1x5mg IV FD NaCl 0,9%
2	CKD Nefrosklerosis	Seftriakson 1x2gram Lasix 1x1amp
3	Ckd stg V Hiponatrem + hipokalemia	Seftriakson 1x2gram Lasix 1x1amp
4	CKD stg V Sindrom nefrotik Isk asimtomatis Anemia	Seftriakson 1x2gram Lasix 1x1amp As.folat 1x5mg Big nat 3x500mg
5	CKD stg V CHF stg II Hipertensi	Seftriakson 1x2gram Lasix 1x1amp Amlodipin 1x10mg As.folat 1x5mg Bic nat 3x50mg
6	CKD stg V Nefrosklerosis Hipertensi Sepsis ec HAP	Seftriakson 1x2gram Siprofloksasin 2x200mg Deksametason 3x5mg

Penjenuhan pada proses ekskresi terjadi pada bagian tubulus di ginjal (sekresi aktif tubulus). Ketika senyawa obat sudah dimetabolisme menjadi bentuk metabolit oleh tubuh, senyawa tersebut akan dibuang melalui ginjal tetapi ketika terjadi kejenuhan pada proses metabolisme maka banyak obat yang seharusnya sudah dibuang tetapi karena masih dalam bentuk aktif maka obat itu akan direabsorpsi kembali oleh tubuh ke dalam darah, akibatnya akan terjadi penumpukan obat dalam darah dengan jumlah yang besar ketika obat ini akan di ekskresikan lagi, akan terjadi antrian panjang pada tubular sehingga akhirnya tubular mengalami kejenuhan yang mengakibatkan obat tidak bisa keluar dan akan terjadi keracunan dalam tubuh. Parameter utama yang dapat diamati pada farmakokinetika nonlinier adalah perubahan dalam tetapan laju eliminasi (Shargel, 2004).

Berkurangnya laju eliminasi pasien mengakibatkan menurunnya klirens obat menjadi lebih lambat yaitu menjadi 0,33 L/jam, jika dibandingkan dengan literatur nilai klirens pasien normal 1,28 L/jam dan pasien gagal ginjal stadium lima memiliki nilai klirens 0,5 L/jam, hal ini dapat terjadi karena penyakit yang diderita pasien pada data pasien. Pasien 1, 5 dan 6 didiagnosa menderita hipertensi. Hipertensi yang berlangsung lama dapat mengakibatkan perubahan struktur pada arteriol di seluruh tubuh. Pada ginjal, arteriosklerosis akibat hipertensi menyebabkan nefrosklerosis. Gangguan ini merupakan akibat penyempitan lumen pembuluh darah intrarenal, penyumbatan arteri dan arteriol akan menyebabkan kerusakan glomerulus dan atrofi tubulus sehingga seluruh nefron akan rusak (Ganong, 1998).

Ginjal memiliki pembuluh darah kecil yang berfungsi untuk menyaring darah, apabila pembuluh darah ini rusak dapat menyebabkan aliran darah akan menghentikan pembuangan limbah serta cairan ekstra dari tubuh karena berkurangnya kemampuan nefron menyaring darah. Keadaan tersebut menyebabkan kelebihan cairan dan natrium yang ada

dalam aliran darah, kelebihan cairan ini memberikan tekanan ekstra pada dinding pembuluh darah sehingga tekanan darah menjadi tinggi. Selain itu adanya kerusakan pada bagian ginjal tertentu, terutama bagian korteks/lapisan luar, akan merangsang produksi hormon renin yang akan menstimulasi terjadinya peningkatan tekanan darah dan hipertensi. Tekanan darah yang berlebih inilah yang menjadi penyebab gangguan fungsi ginjal. Pada pasien gangguan fungsi ginjal laju filtrasi glomerulusnya berkurang, sehingga menyebabkan asidosis metabolik, gangguan keseimbangan elektrolit berupa hipokalemia, hiponatremia dan laju eliminasi akan menjadi lebih lambat.

Penyakit lain yang diderita pasien 1 adalah bronkopneumonia, pada pasien bronkopneumonia terjadi degranulasi sel mast yang mengaktifkan jalur komplemen. Komplemen bekerja sama dengan histamin dan prostaglandin untuk melemaskan otot polos vaskuler paru dan peningkatan permeabilitas kapiler paru. Hal ini mengakibatkan perpindahan eksudat plasma ke dalam ruang interstisium sehingga terjadi pembengkakan dan edema antar kapiler dan alveolus. Penimbunan cairan di antara kapiler dan alveolus meningkatkan jarak yang harus ditempuh oleh oksigen dan karbondioksida maka perpindahan gas ini dalam darah paling berpengaruh dan sering mengakibatkan penurunan saturasi oksigen. Kurangnya oksigen ke jantung akan menyebabkan aliran darah ke jantung berkurang yang juga akan menimbulkan aliran darah ke ginjal akan berkurang. Apabila aliran darah ke ginjal berkurang dapat mengakibatkan kemampuan ginjal untuk mengekskresikan obat juga berkurang dan akan berpengaruh pada kecepatan eliminasi obat menjadi lebih lambat.

Anemia yang terjadi pada pasien gagal ginjal akibat adanya gangguan pembentukan eritropoietin di ginjal. Gejala anemia tersebut ditandai dengan penurunan kadar Hb dan di ikuti dengan penurunan kadar hematokrit (Price *et.al*, 2005). Dari data pasien 4 di diagnosa menderita anemia nilai Hb pasien

ini adalah 10,6 dan hematokrit 32. Nilai ini lebih rendah dari pada nilai normal. Penurunan produksi eritropoietin mengakibatkan tidak terjadinya proses pembentukan eritrosit, terjadi penurunan eritrosit, konsentrasi hemoglobin dan hematokrit (Sudoyo, 2009).

Gagal jantung yang diderita pasien 5 juga akan sangat berpengaruh terhadap ekskresi obat melalui ginjal, dimana gagal ginjal (CHF) terjadi karena menurunnya laju jantung yang dapat menyebabkan penurunan fungsi hati dan aliran darah ke ginjal akan menurun. Penurunan aliran darah ke ginjal secara luas dan juga menurunnya klirens hepatic dapat menyebabkan perubahan farmakokinetika karena terjadi peningkatan angka ekstraksi hepatic. Pada pasien CHF juga terjadi penurunan bioavailabilitas obat karena menurunkan aliran darah ke saluran gastrointestinal dan terkumpulnya cairan edema pada saluran gastrointestinal sehingga absorpsi molekul obat menjadi sulit (Bauer, 2008). Keadaan ini dapat berpengaruh perubahan waktu paruh eliminasi ( $t_{1/2}$ ) obat.

Berkurangnya laju eliminasi pasien mengakibatkan menurunnya klirens obat menjadi lebih lambat yaitu menjadi 0,33 L/jam, jika dibandingkan dengan literatur pasien normal 1,28 L/jam dan pasien dengan gangguan fungsi ginjal stadium lima memiliki nilai klirens 0,5 L/jam. Hal ini dapat terjadi sebagai akibat menurunnya aliran darah ginjal karena menurunnya curah jantung pada penderita CHF sehingga menyebabkan terjadinya umpan balik negatif (ginjal menghasilkan renin). Apabila renin meningkat maka produksi angiotensin II akan banyak, hormon aldosteron juga akan meningkat, urin tertahan dan akan menyebabkan cairan menumpuk.

Kecepatan eliminasi seftriakson juga dipengaruhi oleh adanya interaksi obat-obat yang digunakan pasien. Seftriakson dapat berinteraksi dengan probenesid yang dapat meningkatkan efek nefrotoksik, dan juga interaksi seftriakson dengan obat-obat diuretika kuat seperti furosemid. Selain itu kombinasi seftriakson dengan verapamil juga dapat mengakibatkan kenaikan toksisitas

verapamil. Penggunaan seftriakson bersama Na-diklofenak juga dapat meningkatkan klirens seftriakson (Stockley, 1996). Berdasarkan data pengobatan pasien dapat disimpulkan bahwa ada satu obat yang digunakan pasien 1, 2, 3, 4 dan 5 yang dapat berinteraksi dengan seftriakson yaitu Lasix (Furosemid 10 mg/mL larutan injeksi).

Furosemid digunakan pada pasien gagal ginjal untuk meningkatkan aliran urin sehingga mencegah terjadinya overload cairan. Furosemid mencegah reabsorpsi natrium sehingga mengurangi metabolisme sel tubulus, membersihkan endapan silinder sel sehingga mampu menghilangkan obstruksi. Mueller (2005) menyatakan bahwa furosemid merupakan diuretik kuat yang paling sering digunakan, furosemid bekerja dengan mengeblok transpor aktif sodium pada medula dan korteks *loop of hennle ascending*. Furosemid digunakan untuk mengubah keadaan *oliguri* menjadi *non oliguri*. Jadi, jika dikombinasikan dengan seftriakson maka eksresi seftriakson akan dipercepat dengan adanya furosemid tersebut, tetapi hasil yang di dapat waktu paruh obat lebih panjang, hal ini dapat disebabkan oleh kerusakan ginjal dan penyakit lain yang di derita oleh pasien.

Obat-obatan lain yang diberikan selain seftriakson, pasien juga diberikan terapi antibiotik siprofloksasin, walaupun siprofloksasin diekskresikan di ginjal dan memiliki waktu paruh 4 jam obat ini tidak berinteraksi dengan seftriakson, tetapi siprofloksasin mempunyai efek samping nefrotoksik yg dapat memperparah keadaan ginjal pasien. Penggunaan Parasetamol juga tidak berinteraksi dengan seftriakson walaupun hasil metabolit parasetamol ini diekskresikan di urin yaitu asam glukoronat dan konjugasi sulfat. Obat lain yang digunakan sebagai terapi pada pasien yaitu deksametason. Deksametason merupakan salah satu kortikosteroid terampuh yang sering dipakai dalam pengobatan, namun penggunaan deksametason ini menimbulkan efek samping yang dapat merusak ginjal terutama pada tubulus proximal. Deksametason dapat berinteraksi dengan



obat-obat aminoglutethimide, antasida, antibiotik makrolida, rifampicin, vaksin hidup dan anti jamur azole.

Pengaruh umur terhadap eksresi melalui ginjal. Organ terpenting untuk ekskresi obat adalah ginjal. Obat diekskresi melalui ginjal dalam bentuk utuh maupun bentuk metabolitnya. Ekskresi dalam bentuk utuh atau bentuk aktif merupakan cara eliminasi obat melalui ginjal. Ekskresi melalui ginjal melibatkan 3 proses, yakni filtrasi glomerulus, sekresi aktif di tubulus. Fungsi ginjal mengalami kematangan pada usia 6-12 bulan, dan setelah dewasa menurun 1% per tahun (Gunawan, 2009).

Sementara itu dari hasil penelusuran literatur juga tidak ditemukan interaksi antara seftiakson dengan makanan. Seftriakson dapat berinteraksi dengan alkohol. Interaksi tersebut akan menyebabkan terjadinya reaksi disulfiram, seperti dilaporkan terjadi pada satu pasien yang meminum alkohol saat menerima seftiakson. Namun, efek ini umumnya telah dilaporkan hanya dengan antibiotik  $\beta$ -laktam yang mengandung N-methylthiotetrazole (NMTT) rantai samping (misalnya, sefamandol, cefoperazone, cefotetan) (McEvoy & Gerald, 2008). Dari hasil wawancara, pasien tidak mengkonsumsi alkohol dengan demikian dapat disimpulkan tidak ada interaksi antara makanan yang dikonsumsi pasien dengan terapi seftiakson yang diberikan.

Fraksi dosis obat seftiakson yang didapatkan dari pasien adalah 0,52. Ini berarti pada saat akhir pemberian dosis (sebelum pemberian dosis berikutnya) jumlah obat yang tinggal dalam tubuh adalah 52% dari jumlah obat yang ada dari dosis sebelumnya. Berdasarkan perhitungan yang didapatkan dari fraksi jumlah kumulatif obat juga didapatkan data jumlah seftiakson maksimum dan minimum. Dengan menganggap nilai  $F$  pemberian IV yaitu 1 didapatkan nilai  $D_{maks}$  4.272,8 mg,  $D_{min}$  2.272,8 mg serta indeks akumulasi obat 2,13. Pada perhitungan jumlah fraksi obat yang tinggal dalam tubuh disimpulkan setelah tiga hari pemberian obat jumlah obat yang tinggal pada hari berikutnya akan sama. Jadi jika

pemberian obat dihentikan maka jumlah obat dalam tubuh akan sama dengan obat yang tersisa pada hari ke tiga. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan literatur pasien normal yaitu 0,10,  $D_{maks}$  2.222,22 mg,  $D_{min}$  222,22 mg dan indeks akumulasi obat 1,11 (Rochevin, 2011). Pada pasien normal terjadi akumulasi dosis obat setelah enam hari. Dan nilai fraksi dosis obat seftiakson untuk pasien dengan gangguan fungsi ginjal stadium lima menurut literatur adalah 0,38 dengan  $D_{maks}$  3.225 mg serta  $D_{min}$  1.225 mg. Pada perhitungan jumlah fraksi obat yang tinggal dalam tubuh disimpulkan setelah sembilan hari pemberian obat jumlah obat yang tinggal pada hari berikutnya akan sama.

Jika dosis yang diberikan pada pasien ini ditingkatkan menjadi 2x2 gram maka didapatkan nilai jumlah fraksi dosis obat seftiakson yang didapatkan yaitu 0,52 dengan  $D_{maks}$  8.546 mg serta  $D_{min}$  4.546 mg. Pada perhitungan jumlah fraksi obat yang tinggal dalam tubuh disimpulkan setelah empat hari pemberian obat jumlah obat yang tinggal pada hari berikutnya akan sama. Jadi jika pemberian obat dihentikan maka jumlah obat yang terakumulasi dalam tubuh akan sama dengan obat yang tersisa pada hari ke empat.

Pengaturan dosis pemeliharaan *maintenance dose* (MD) perlu dilakukan supaya dosis yang diterima pasien efektif dan efisien baik dalam segi pemberian terapi maupun segi farmakoeкономи. Dosis pemeliharaan atau *maintenance dose* (MD) dapat dihitung dari perkalian antara kadar tunak atau *consentration of steady state* ( $C_{ss}$ ) dengan klirens obat (Bauer, 2006). Keadaan tunak adalah keadaan dimana obat tidak dapat bertambah lagi konsentrasinya di dalam darah walaupun kita beri obat secara terus menerus asal dosis dan intervalnya tetap. Perubahan ekskresi urin atau klirens kreatinin, perubahan klirens hepatic karena adanya saturasi/kejenuhan pada sistem metabolisme di hati, inhibisi/induksi enzim metabolisme dapat menyebabkan kadar obat dalam darah tidak sesuai dengan yang diperhitungkan (Shargel, 2004).

Bioavailabilitas selama pemberian suatu dosis obat dapat ditentukan hanya setelah kadar tunak (*Concentration steady state*) dalam obat tercapai. Waktu yang diperlukan untuk mencapai kadar tunak adalah  $7 \times t_{1/2}$  eliminasi yaitu mencapai C<sub>ss</sub> sekitar 99% (Shargel, 2004). Perhitungan C<sub>ss</sub> ini sangat penting dalam farmakokinetika klinik karena dengan mengetahui kadar tunak kita dapat menyarankan regimen dosis selanjutnya pada pasien (Bauer, 2008). Berdasarkan literatur C<sub>ss</sub> seftriakson adalah 77 mg/L dan klirens seftriakson rata-rata pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium lima adalah 0,33 L/jam, sehingga didapatkan dosis pemeliharaan untuk pasien ini sebesar 25,4 mg/jam atau 609,6 mg/hari. Jadi pada hari pertama diberikan seftriakson 1x2 gram,

pada hari kedua dan selanjutnya diberikan 609,6 mg/hari.

Pada pasien ini dapat disimpulkan bahwa akumulasi seftriakson pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium lima terjadi pada hari ke tiga pemberian obat dengan jumlah obat maksimal (D<sub>maks</sub>) adalah 4.272,8 mg, konsentrasi maksimum obat setelah pemberian dosis obat 341,8 mg/L dan konsentrasi minimum dari obat 181,8 mg/L sementara itu pemberian seftriakson diberikan selama 7 hari. Dalam penelitian ini belum bisa disimpulkan seftriakson ini mencapai kadar toksik atau tidak karena belum ada data yang menyatakan tentang nilai *Minimum Toxicity Concentration* (MTC) dari seftriakson.

### KESIMPULAN

Setelah dilakukan penelitian mengenai Tinjauan Akumulasi Seftriakson dari Urin menggunakan Elektroforesis Kapiler pada Pasien Gangguan fungsi Ginjal stadium lima dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Laju eliminasi (K) rata-rata pasien adalah 0,027 dengan  $t_{1/2}$  26,4 jam, penurunan laju eliminasi ini dapat dipengaruhi oleh penyakit yang diderita pasien sehingga ekskresi obat menjadi lambat.
2. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa akumulasi seftriakson pada pasien gangguan fungsi ginjal stadium

lima terjadi pada hari ke tiga pemberian obat dengan jumlah obat maksimal (D<sub>maks</sub>) adalah 4.272,8 mg sementara itu seftriakson di berikan selama 7 hari kepada pasien.

3. Berdasarkan C<sub>ss</sub> seftriakson 77 mg/L dan klirens seftriakson rata-rata pasien 0,33 didapatkan pengaturan dosis pemeliharaan atau *maintenance Dose* (MD) untuk pasien gangguan fungsi ginjal stadium lima sebesar 25,4 mg/jam atau 609,6 mg/hari.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Pimpinan, Kepala Pendidikan dan Penelitian, Kepala Instalasi Rawat Inap Penyakit Dalam dan Kepala Ruangan

Bangsar Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang, yang telah memberikan izin dan fasilitas kepada penulis dalam melakukan penelitian di Instalasi Rawat Inap RSUP Dr. M Djamil Padang.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. *British National Formulary 57<sup>th</sup> Ed.* BMJ Group and RPS Publishing.
- Bauer, L. 2008. *Clinical Pharmacokinetics Handbook*. Washington: McGraw Hill.

- Chasani, S. 2008. *Antibiotik Nefrotoksik: Penggunaan pada Gagal Ginjal*. Semarang: FK UNDIP.
- Deddy, S.P. 2011. *Monografi Seftriakson (Sefalosporin Generasi ketiga)*. Riau: FK UNRI.
- Demikarya. 2006. Ceftriaxone-related Hemolysis and Acute Renal Failure. *Pediatric.Nephrol.* 21(5):733-6
- Fenty. 2010. Laju Filtrasi Glomerulus pada Lansia Berdasarkan Tes Klirens Kreatinin dengan Formula Cockcroft-Gault, Cockcroft-Gault Standarisasi dan Modification Of Diet In Renal Disease. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Frizzell. 2001. *Handbook of pathophysiology*. New York: Springhouse corp.
- Ganiswara, S.G., Setiabudy, R., Suyatna, D.F., Purwantyastuti & Nafrialdi. 2005. *Farmakologi dan terapi Edisi IV*. Jakarta: FK UI.
- Ganong, F.W. 2001. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran 20<sup>th</sup> Ed.* Jakarta: EGC. 671-675.
- Gunawan & Sulistia, G. 2009. *Farmakologi dan Terapi edisi 5*. Jakarta: FK UI.
- Jayesh. 2010. Pharmacokinetics of Ceftriaxone. *Vet. Arhiv.* 80, 1-9.
- DiPiro, J.T., Wells, B.G., DiPiro, C.V & Schwinghammer, T.L.. 2009. *Pharmacotherapy Handbook Seventh Edition*. New York: McGraw Hill.
- Joynt. 2000. The Pharmacokinetics of Once Daily Dosing of Ceftriaxone in Critically ill Patients. *J.Antymic.vol47*.
- Lestari, W. 2011. Studi Penggunaan Antibiotik Berdasarkan Sistem ATC/DDD dan Kriteria Gyysens di Bangsal Penyakit Dalam RSUP DR.M.Djamil. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- McEvoy & Gerald. 2008. *AHFS Drugs Information*. USA: American Society of health system pharmacists.
- Mueller, B.A. 2005. Acute Renal Failure dalam Dipiro, J.T, Talbert, RL., Yee, GC., Wells, BG & Posey, ML., *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach 6<sup>th</sup> Edition*. 781-796. Philadelphia: Apleton and lange,.
- Nelwan, R.H.H. 2006. *Pemakaian Antimikroba Secara Rasional Di klinik: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III, Edisi IV*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Nollet. 2004. Analisa Rhodamin B dan Metanil Yellow dalam Minuman Jajanan Anak SD di Kecamatan Laweyan Kotamadya Surakarta Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Univ. Muhamadiyah.
- Price & Wilson. 2006. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit edisi VI*. Jakarta: EGC.
- Rochepin. 2011. *Ceftriaxone Sodium*. USA: Hoffmann-La Roche Inc.
- Santoso, B. 1985. Farmakokinetika klinik. *Cermin Dunia Kedokteran ed 37*. 8-12. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan PT. Kalbe Farma.
- Sean,C.S. 2009. *Martindale The Complete Drugs Reference 36<sup>th</sup> Ed.* USA: Pharmaceutical Press.
- Sennang, N, Sulina, Badji, A & Hardjoeno. 2005. Laju Filtrasi Glomerulus pada Orang Dewasa Berdasarkan Tes Klirens Kreatinin Menggunakan Persamaan Cockcroft-Gault dan Modification of Diet in Renal Disease. *J.Med.Nus.* 24(2):80-84.
- Shargel, L, Andrew, B.C & Sussanna, W.U. 2004. *Appllied Biopharmaceutics and Biopharmakokinetics 5<sup>th</sup> Ed.* Boston: Appleton Century Croft.
- Solangi AR, Memon SQ, Khuhawar MY, Bhanger MI & Mallah A. 2009. Quantitative separation of oxytocin, norfloxacin and diclofenac sodium in milk samples using capillary electrophoresis. *Biomed.Chromatogr.* 23: 1007-1013.
- Solangi AR, Memon SQ, Mallah A, Memon N, Khuhawar MY & Bhanger MI. 2010. Determination of ceftriaxone, ceftizoxime, paracetamol and diclofenac sodium by capillary zone electrophoresis in pharmaceutical

- formulations and in human blood serum. *Turk. J. Chem.* 34: 921-933.
- Sudoyo, A.W., Bambang Setiyohadi, Idrus Alwi, Marcellus Simadibrata K & Siti Setiati. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi IV*. Jakarta: FKUI.
- Suryawati, S. 1984. *Pengukuran Klirens Ginjal Obat*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Tan, H.T. 2008. *Obat-obat penting, khasiat, penggunaan dan efek sampingnya*. Jakarta: BMK
- Vera, C.L, Olivieri, A.C & Goicoechea, H.C. 2010. Development of a novel strategy for preconcentration of antibiotic residues in milk and their quantitation by capillary electrophoresis. *Talanta*. 82: 213-221.
- Wise R & Wright N. 1985. *The Pharmacokinetics of Cefotaxime and Ceftriaxone in Renal and Hepatic Dysfunction*. Munchen: Medichine Verlag GmbH Munchen.
- Yan Xu. 1996. *Tutorial Capillary Electrophoresis*. New York: Springer Verlaq.

## UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN ENCOK (*Plumbago zeylanica* L.) DALAM PENGOBATAN NYERI SENDI PADA TIKUS PUTIH JANTAN

Ria Afrianti, Eka Fitrianda, dan Nadya Utari

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang

### ABSTRAK

Telah diteliti aktivitas analgetika ekstrak etanol daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) terhadap nyeri pada sendi tikus putih jantan yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1% secara intraartikular. Suspensi ekstrak etanol daun encok diberikan secara oral pada 18 jam setelah penginduksian. Hewan percobaan dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol negatif tanpa diberikan penginduksi. Kelompok II sebagai kontrol positif yang diberikan penginduksi. Kelompok III, IV, dan V adalah kelompok hewan yang diberi ekstrak etanol daun Encok dengan dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB. Kelompok VI adalah kelompok hewan yang diberi pembanding natrium diklofenak dengan dosis 4,5 mg/ kg BB. Parameter yang diukur adalah penurunan jumlah refleksi nyeri saat dilakukan gerakan fleksi dan waktu penurunan nyeri. Waktu pengamatan dilakukan pada 30 menit, 1 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam, 12 jam, dan 14 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun encok dapat menurunkan nyeri pada sendi tikus secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Peningkatan dosis meningkatkan aktifitas analgetik dan mempercepat waktu mulai hilang nyeri pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1%.

### PENDAHULUAN

#### Latar Belakang

Penyakit pada persendian merupakan gangguan yang cukup berarti, dimana dapat menimbulkan ketidakmampuan bergerak pada sebagian penderita dan dapat menyerang segala usia. Nyeri akibat penyakit ini dapat menimbulkan distabilitas fisik baik ringan maupun berat. Penyakit-penyakit dengan gangguan persendian di masyarakat lebih sering diidentikkan dengan rematik. Meskipun sesungguhnya penyakit pada persendian banyak macamnya, seperti osteoarthritis, rheumatoid arthritis, pirai, *sistemik lupus erytematosus*, dan lain-lain (McGowan, 2003).

Peningkatan pembangunan di Indonesia terutama dalam bidang kesehatan membawa perubahan pada kondisi masyarakat di Indonesia. Perubahan yang terjadi antara lain adanya perubahan pola atau struktur penduduk yang ditandai dengan semakin banyaknya warga lanjut usia (lansia) karena meningkatnya umur harapan hidup. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan penyakit yang berkaitan dengan faktor

penuaan. Salah satu penyakit yang terutama ditemukan di kalangan usia lanjut ialah penyakit sendi (Maharani, 2007). Organisasi kesehatan sedunia (WHO) menyatakan bahwa beberapa juta orang telah menderita karena penyakit sendi dan tulang, dan angka tersebut diperhitungkan akan meningkat tajam karena banyaknya orang yang berumur lebih dari 50 tahun pada tahun 2020 (Setiyohadi dan Isbagio, 2009).

Pada penyakit peradangan sendi, hampir selalu terdapat gejala nyeri dan kaku terutama pada persendian. Nyeri merupakan sensasi subjektif dengan intensitas atau lokasi yang kadang kala sulit untuk digambarkan (Agoes, *et al*, 2008). Menurut *The International Association for the study of pain* (IASP), nyeri didefinisikan sebagai pengalaman sensoris dan emosional yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan kerusakan jaringan atau potensial akan menyebabkan kerusakan jaringan. Seiring dengan tumbuhnya kesadaran akan efek samping produk-produk kimiawi, maka tumbuh pula kesadaran akan pentingnya

produk-produk alami termasuk dalam kesehatan (pengobatan), karena produk alami dianggap lebih aman, murah dan sedikit memiliki efek samping. Salah satu tumbuhan yang dikenal sebagai tanaman obat yaitu daun Encok (Poeloengan, 2009). Daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) merupakan salah satu tanaman tradisional yang sering digunakan untuk pengobatan. Daun dan akarnya berkhasiat sebagai obat pada berbagai penyakit diantaranya daun digunakan untuk obat encok atau rematik, masuk angin, susah buang air kecil dan sakit kepala. Akarnya secara empiris digunakan untuk mengobati kurap atau gatal-gatal. Selain itu tanaman ini juga dapat menghilangkan rasa sakit dan mampu mengobati penyakit kanker darah. Tanaman

daun Encok sudah lama populer di Asia dan Afrika sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kulit yang disebabkan oleh parasit (Syahid dan Kristina, 2008).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian dengan menggunakan bagian daun dari tumbuhannya yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol untuk pengobatan nyeri sendi yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1%.

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek analgetik ekstrak etanol daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.) terhadap penurunan nyeri pada sendi tikus putih jantan yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1%.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan kurang lebih selama 3 bulan di Laboratorium Farmakologi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Padang.

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan adalah botol maserasi, seperangkat alat *rotary evaporator*, timbangan analitik, timbangan hewan, kandang hewan, lumpang dan stamper, jarum suntik, spatel, corong, penangas air, gunting, krus, alat suntik, krus porselen, beaker glass, gelas ukur, pipet tetes, desikator.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan adalah daun encok (*Plumbago zeylanica* L.), etanol 96%, aquadest, Na.CMC, makanan standar tikus, larutan AgNO<sub>3</sub> 1%, natrium diklofenak, kloroform, FeCl<sub>3</sub>, Serbuk Mg, asam asetat anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, HCl (p), kalium iodida, HgCl<sub>2</sub>, aquades.

### **Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan berat badan 200-300 gram. Sebelum digunakan hewan

percobaan diaklimatisasi selama lebih kurang 1 minggu dengan diberi makan dan minum yang cukup. Hewan yang dinyatakan sehat digunakan dalam penelitian yaitu hewan yang selama pemeliharaan perubahan bobot hewan tidak melebihi 10% dan menunjukkan perilaku normal.

### **Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.) yang diambil di Kecamatan Situjuh Nan Ampek, Kota Payakumbuh, Sumatera Barat.

### **Identifikasi Sampel**

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.)**

Sampel dibersihkan, ditimbang sebanyak 1 Kg lalu dikering anginkan dan dirajang kemudian dimaserasi dengan etanol 96% selama lima hari. Proses maserasi dilakukan sebanyak tiga kali. Maserat

disaring, kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental

#### **Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Encok**

Ekstrak daun Encok dikarakterisasi dengan beberapa parameter yaitu: Uji fitokimia, susut pengeringan dan kadar abu. Hasil pemeriksaan fitokimia memberikan hasil bahwa ekstrak etanol daun Encok positif mengandung flavonoid, fenolik, saponin, terpenoid dan steroid.

#### **Dosis Yang digunakan**

Dosis ekstrak daun Encok yang diberikan kepada hewan percobaan secara peroral adalah 100 mg/kg BB, 300 mg /kg BB, 1000 mg/kg BB serta pembanding yang digunakan adalah natrium diklofenak dengan dosis 4,5 mg/kg BB.

#### **Pembuatan Larutan Pembanding**

Pembuatan larutan pembanding natrium diklofenak sama dengan pembuatan larutan uji diatas. Sebanyak 50 mg Na.CMC ditabur diatas air panas sebanyak 20 kalinya dalam lumpang, biarkan selama 15 menit, kemudian digerus menjadi massa yang homogenya tambahkan natrium diklofenak 4,5 mg/kg BB lalu digerus homogen. Kemudian larutkan dalam 10 ml aquadest.

#### **Uji Efek Anti Nyeri Sendi Ekstrak Etanol Daun Encok pada Tikus Putih Jantan**

Adapun urutan kerja didalam pengujian ini adalah:

1. Hewan percobaan diaklimatisasi selama 1 minggu
2. Larutan AgNO<sub>3</sub> 1% disuntikkan kepada setiap hewan uji, ke dalam sendi tibio

tersienne. Delapan belas jam kemudian dilakukan pengamatan. Hewan yang mencicit karena kesakitan bila dilakukan gerakan fleksi terhadap sendi yang bengkak sebanyak 10 kali dalam waktu 1 menit adalah hewan yang dapat digunakan untuk percobaan. Hewan yang telah terseleksi ini secara acak dikelompokkan menjadi 6 kelompok.

- a. Kelompok I sebagai kontrol negatif yang tidak diberikan sediaan uji
  - b. Kelompok II sebagai kontrol positif yang diberikan penginduksi larutan AgNO<sub>3</sub> 1%
  - c. Kelompok III, IV, dan V sebagai kelompok uji diberi sediaan uji berturut-turut dengan dosis 100, 300, 1000 mg/kg BB.
  - d. Kelompok VI merupakan kelompok pembanding yang diberi natrium diklofenak dengan dosis 4,5 mg/kg BB.
3. Kemudian tiap hewan dilakukan gerakan fleksi pada sendi sebanyak 10 kali dalam 1 menit. Sediaan uji dinyatakan bersifat analgetik untuk nyeri sendi bila hewan tidak mencicit kesakitan oleh gerakan fleksi yang dilakukan. Waktu pengamatan dilakukan pada 30 menit, 1 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam, 12 jam, dan 14 jam setelah pemberian sediaan uji.

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh diolah secara statistik terhadap dosis dan waktu memakai Analisa Variabel (Anova) dua arah dan dilanjutkan uji wilayah Duncan (Duncan's Multiple range Test).

### **HASIL DAN DISKUSI**

#### **Hasil**

Setelah dilakukan uji efek analgetik ekstrak etanol daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Dari proses ekstraksi 1 kg sampel segar daun encok didapatkan ekstrak kental sebanyak 42,1 gram.

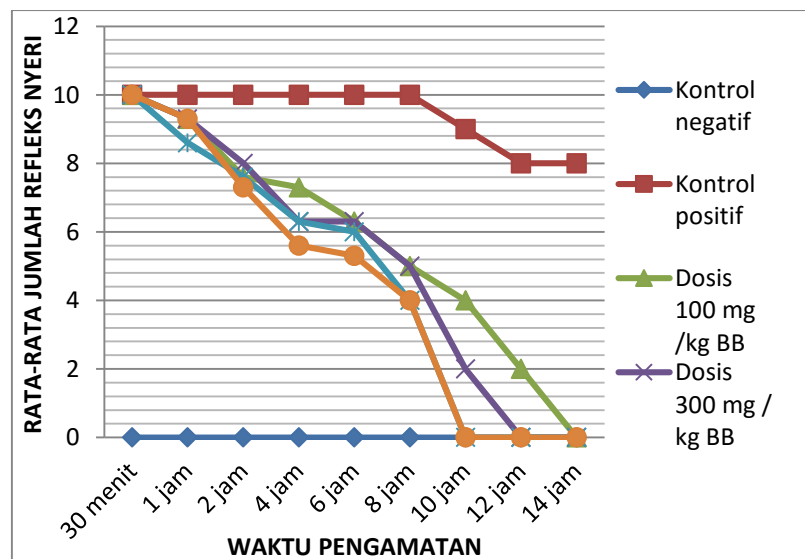
2. Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak etanol daun encok diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun encok mengandung flavonoid, terpenoid, steroid, fenol, dan saponin.
3. Susut pengeringan ekstrak adalah 9,12 % dan kadar abu ekstrak didapatkan hasil sebesar 13,78% .

4. Setelah dilakukan perlakuan terhadap masing-masing kelompok maka didapatkan hasil bahwa sudah ada penurunan refleksi nyeri pada kelompok III, IV, V, dan VI pada jam ke-1, sedangkan pada kelompok II Penurunan refleksi nyeri terjadi pada jam ke-10.
5. Hilangnya rasa nyeri pada kaki tikus ditandai dengan tidak adanya refleksi nyeri setelah dilakukan gerakan fleksi. Pada kelompok III hilangnya rasa nyeri terjadi pada jam ke-14, kelompok IV pada jam ke-12, kelompok V dan VI pada jam ke-10.

### Pembahasan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan, karena hewan tersebut mudah penanganannya dan menunjukkan efek farmakologi yang mudah diamati. Luas permukaan sendi pada kaki tikus lebih besar dibandingkan luas permukaan sendi pada kaki mencit sehingga lebih mudah dalam memberikan induksi secara intraartikular. Hewan percobaan tersebut diinduksi dengan menyuntikkan larutan  $\text{AgNO}_3$  1 % ke dalam sendi kaki tikus bagian belakang.  $\text{AgNO}_3$  digunakan sebagai penginduksi karena

$\text{AgNO}_3$  merupakan logam berat yang dapat mengendapkan protein pada yang terdapat pada sendi tikus sehingga menimbulkan rasa nyeri pada sendi tikus.  $\text{AgNO}_3$  juga dapat terurai menjadi  $\text{NO}_2$  yang merupakan radikal bebas yang dapat memicu respon inflamasi dan menyebabkan nyeri. Setelah 18 jam penginduksian dilakukan gerakan fleksi pada kaki tikus yang telah diberi penginduksi. Hewan yang menunjukkan refleksi nyeri karena dilakukan gerakan fleksi adalah yang dapat dipakai dalam percobaan. Hewan percobaan dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok I (kontrol negatif) tidak diberikan perlakuan atau tidak diinduksi, kelompok II (kontrol positif) yang hanya diberi penginduksi, kelompok III, IV, dan V yang diberi suspensi ekstrak dengan dosis 100 mg / kg BB, 300 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB, dan kelompok VI (pembanding) yang diberi suspensi natrium diklofenak dengan dosis 4,5 mg/kg BB. Sedangkan terhadap Pengamatan dilakukan pada menit ke 30, pada jam ke 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 14. Efek analgetik ditunjukkan dengan menghilangnya nyeri pada sendi hewan percobaan saat dilakukan gerakan fleksi sebanyak 10 kali dalam 1 menit pada tiap-tiap waktu pengamatan, seperti terlihat pada gambar dibawah ini:



Gambar 1. Diagram hubungan kelompok perlakuan dengan jumlah refleksi nyeri pada berbagai waktu pengamatan terhadap tikus putih jantan.



Pada kelompok I yang tidak diberi penginduksi didapatkan tidak adanya refleks nyeri pada saat dilakukan gerakan fleksi dari menit ke-30 hingga jam ke-14. Kelompok II yang hanya diberikan penginduksi tanpa diberikan suspensi ekstrak, jumlah refleks nyeri akibat gerakan fleksi pada menit ke-30 hingga jam ke-8 adalah 10 kali atau tidak mengalami penurunan. Namun pada jam ke-10 jumlah refleks nyeri mulai berkurang menjadi 9 dan pada jam ke-12 dan jam ke-14 jumlah refleks nyeri berkurang menjadi 8 kali refleks nyeri. Pada kelompok III jumlah refleks nyeri pada 30 menit pertama tidak mengalami penurunan. Pada jam ke-1 jumlah refleks nyeri mulai berkurang dengan rata-rata jumlah refleks nyeri 9,3 kali. Pada jam ke-2 jumlah refleks nyeri berkurang menjadi 7,6 kali. Pada jam ke-4 berkurang menjadi 7,3 kali. Pada jam ke-6 jumlah refleks nyeri berkurang menjadi 6,3 kali. Jam ke-8 berkurang menjadi 5 kali, Jam ke-10 berkurang menjadi 4 kali, jam ke-12 berkurang menjadi 2 kali, dan jam ke-14 jumlah refleks nyeri hilang sama sekali. Pada kelompok IV jumlah refleks nyeri pada menit ke-30 adalah 10 kali refleks nyeri. Pada jam ke-1 jumlah refleks nyeri berkurang menjadi 9,3 kali refleks nyeri. Jam ke-2 menjadi 8 kali refleks. Jam ke-4 menjadi 6,3 kali refleks nyeri, Jam ke-6 6,3 kali refleks. Jam ke-8 menjadi 5 kali refleks. Jam ke 10 menjadi 2 kali refleks. Pada jam ke-12 refleks sudah menghilang. Pada kelompok V jumlah refleks nyeri tikus pada menit ke-30 belum berkurang yaitu 10 kali refleks nyeri. Pada jam ke-1 berkurang menjadi 8,6 kali refleks nyeri. Jam ke-2 menjadi 7,6 kali refleks nyeri. Jam ke-4 menjadi 6,3 kali refleks nyeri. Jam ke-6 menjadi 6 kali refleks nyeri. Jam ke-8 menjadi 4 kali refleks nyeri dan jam ke-10 jumlah refleks nyeri menjadi 0. Pada kelompok VI jumlah refleks nyeri pada menit ke-30 adalah 10 kali refleks nyeri. Pada jam ke-1 menurun menjadi 9,3 kali refleks nyeri. Jam ke-2 menjadi 7,3 kali refleks nyeri. Jam ke-4 menjadi 5,6 kali refleks nyeri. Jam ke-6 menjadi 5,3 kali refleks nyeri. Jam ke-8 menjadi 4 kali refleks nyeri. Pada jam ke-10 jumlah refleks nyeri

sudah menghilang. Hasil pengamatan pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa pada kelompok I yang tidak diberi penginduksi sehingga tidak menimbulkan refleks nyeri pada saat dilakukan gerakan fleksi. Hal ini dikarenakan pada kelompok I hanya diberikan larutan Na.CMC sebagai pembawa yang tidak memiliki efek farmakologi sehingga tidak menimbulkan rasa nyeri. Kelompok II adalah kelompok kontrol positif yang diberi penginduksi yaitu larutan AgNO<sub>3</sub> 1% tanpa diberi sediaan uji sehingga jumlah refleks nyeri saat dilakukan gerakan fleksi pada kelompok ini lebih tinggi daripada kelompok lainnya pada tiap-tiap waktu pengamatan. Hal ini disebabkan karena pada kelompok tersebut hanya diberikan penginduksi AgNO<sub>3</sub> saja tanpa diberikan sediaan uji yang dapat menurunkan rasa nyeri. Kelompok III, IV, dan V adalah kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun Encok dengan dosis 100, 300, dan 1000 mg/kg BB. Pada ketiga kelompok tersebut terlihat efek analgetika yang berbeda nyata dimana kelompok V (dengan dosis 1000 mg/kg BB) memiliki efek analgetika yang lebih baik dari kelompok III dan IV. Hal ini dapat dilihat pada hasil pengamatan dimana pada jam ke-10 rasa nyeri pada tikus telah menghilang sedangkan pada kelompok III dan IV rasa nyeri baru menghilang saat jam ke-14 dan jam ke-12. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan dosis antara kelompok III, IV, dan V sehingga jumlah zat aktif yang terdapat pada ekstrak juga berbeda. Semakin meningkatnya dosis maka jumlah zat aktif yang terkandung semakin banyak sehingga dapat lebih efektif dalam menurunkan rasa nyeri. Setelah dilakukan perhitungan statistik analisa varian (ANOVA) dua arah menggunakan program SPSS 17.0, didapatkan bahwa pemberian suspensi ekstrak etanol daun Encok dapat menurunkan jumlah refleks nyeri secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Ini artinya pemberian suspensi ekstrak etanol daun encok pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1% dapat menurunkan nyeri atau memiliki aktivitas analgetik. Hasil analisa statistik kemudian dilanjutkan dengan uji

Duncan yang menunjukkan bahwa kemampuan masing-masing dosis dalam menurunkan jumlah refleksi nyeri pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1% berbeda. Semakin meningkatnya dosis maka kemampuan dalam menurunkan refleksi nyeri semakin baik dan semakin mendekati pembanding. Ini artinya semakin meningkatnya dosis aktifitas analgetik semakin baik. Hasil Uji lanjut Duncan terhadap waktu pengamatan pada kelompok II, III, IV, V, dan VI menunjukkan bahwa terdapat perbedaan waktu penurunan jumlah refleksi nyeri pada masing-masing kelompok. Pada kelompok II (kontrol positif) menunjukkan bahwa penurunan refleksi nyeri pada waktu pengamatan menit ke-30 tidak berbeda nyata terhadap waktu pengamatan pada jam ke-1. Refleksi nyeri pada waktu pengamatan pada jam ke-1 juga tidak berbeda nyata terhadap waktu pengamatan jam ke-2. Refleksi nyeri pada waktu pengamatan jam ke-2 tidak berbeda nyata terhadap waktu pengamatan jam ke-4. Refleksi nyeri pada waktu pengamatan jam ke-4 tidak berbeda nyata terhadap waktu pengamatan jam ke-6. Refleksi nyeri pada waktu pengamatan jam ke-6 juga tidak berbeda nyata terhadap waktu pengamatan jam ke-8. Hal tersebut berarti pada waktu pengamatan dari menit ke-30 hingga jam ke-8 tidak terjadi penurunan rasa sakit akibat gerakan fleksi yang dilakukan terhadap sendi tikus yang telah diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1%. Pada jam ke-10 terjadi penurunan jumlah refleksi nyeri yang berbeda nyata terhadap waktu pengamatan pada menit ke-30 hingga jam ke-8. Pada jam ke-12 penurunan jumlah refleksi nyeri berbeda nyata terhadap waktu pengamatan pada jam ke-10, jam ke-14, dan menit ke-30 hingga jam ke-8. Pada jam ke-14 penurunan jumlah refleksi nyeri juga berbeda nyata terhadap waktu pengamatan pada jam ke-10, jam ke-12, dan menit ke-30 hingga jam ke-8. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa pada kelompok II (kontrol positif) penurunan rasa sakit dimulai pada jam ke 10. Hal tersebut dapat dilihat secara statistik berdasarkan jumlah refleksi nyeri tikus yang telah

berkurang pada jam tersebut. Rasa nyeri pada hewan percobaan kelompok II masih terus berlanjut hingga 14 jam waktu pengamatan dan hanya sedikit berkurang. Hal ini dikarenakan kelompok tersebut hanya diberi penginduksi tanpa diberi sediaan yang dapat menurunkan rasa nyeri. Pengaruh waktu pengamatan pada pemberian suspensi ekstrak etanol daun encok dengan dosis 100 mg/kg BB terhadap kelompok III menunjukkan bahwa refleksi nyeri pada menit ke-30 tidak berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-1. Refleksi nyeri pada jam ke-1 berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-2. Refleksi nyeri pada jam ke-2 tidak berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-4. Refleksi nyeri pada jam ke-4 tidak berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-6. Refleksi nyeri pada jam ke-6 berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-8. Refleksi nyeri pada jam ke-8 tidak berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-10. Refleksi nyeri pada jam ke-10 berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-12 dan refleksi nyeri pada jam ke-12 juga berbeda nyata terhadap refleksi nyeri pada jam ke-14. Secara statistik jumlah refleksi nyeri pada jam ke-4 tidak berbeda nyata terhadap waktu pengamatan jam ke-2 dan jam ke-6. Namun jumlah refleksi nyeri pada jam ke-2 berbeda nyata terhadap waktu pengamatan jam ke-6. Hal tersebut disebabkan karena signifikansi dari waktu pengamatan jam ke-4 dan jam ke-2 berbeda dengan signifikansi waktu pengamatan jam ke-4 dan jam ke-6, dimana signifikansi pada waktu pengamatan jam ke-4 dan jam ke-6 lebih besar dibandingkan waktu pengamatan jam ke-4 dan jam ke-2. Dari data tersebut menunjukkan 6 tingkat rasa sakit yaitu pada menit ke-30 hingga jam ke-1, pada jam ke-2 hingga jam ke-4, pada jam ke-4 hingga jam ke-6, pada jam ke-8 hingga jam ke-10, pada jam ke-12 dan jam ke-14. Masing-masing tingkat rasa sakit tersebut memiliki pengaruh yang berbeda nyata. Penurunan jumlah refleksi nyeri setelah diberi penginduksi yang memberikan pengaruh yang nyata dimulai pada waktu pengamatan saat jam ke-2 dan hilangnya refleksi nyeri dimulai pada jam ke-

14. Pada kelompok IV (dosis ekstrak etanol daun encok 300 mg/ kg BB) jumlah refleks nyeri pada waktu pengamatan menit ke-30 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-1, jumlah refleks nyeri jam ke-1 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-2, jumlah refleks nyeri jam ke-2 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-4, Jumlah refleks nyeri jam ke-4 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-6, jumlah refleks nyeri jam ke-6 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-8, jumlah refleks nyeri jam ke-8 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke 10, jumlah refleks nyeri jam ke-10 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-12 dan jumlah refleks nyeri jam ke-12 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri jam ke-14. Dari data tersebut menunjukkan tingkat rasa sakit pada menit ke-30 hingga jam ke-1, pada jam ke-2, pada jam ke-4 hingga jam ke-6, pada jam ke-8, pada jam ke-10, dan pada jam ke-12 hingga jam ke-14 masing-masing berbeda nyata. Penurunan jumlah refleks nyeri yang memberikan pengaruh bermakna dimulai pada jam ke-2 dan hilangnya rasa nyeri dimulai pada jam ke-12. Hilangnya rasa nyeri pada hewan percobaan kelompok IV lebih cepat dibandingkan pada hewan percobaan kelompok III, hal ini dikarenakan dosis ekstrak yang terdapat pada kelompok IV lebih tinggi daripada kelompok III sehingga hilangnya rasa nyeri semakin cepat. Pada kelompok V (dosis ekstrak etanol daun encok 1000 mg/kg BB) terdapat 6 tingkat rasa sakit yaitu pada menit ke-30, jam ke-1, jam ke-2, jam ke-4 hingga jam ke-6, jam ke-8, jam ke-10 hingga jam ke-14 yang masing-masing memiliki pengaruh yang berbeda nyata. Jumlah refleks nyeri pada menit ke-30 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-1. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-1 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-2. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-2 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-4. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-4 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-6.

Jumlah refleks nyeri pada jam ke-6 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-8. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-8 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-10. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-10 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-12 dan jumlah refleks nyeri pada jam ke-12 juga tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke 14. Penurunan jumlah refleks nyeri dimulai pada jam ke-1 dan hilangnya rasa nyeri dimulai pada jam ke-10. Hal ini menunjukkan bahwa semakin meningkatnya dosis efek analgetik semakin baik. Hal tersebut ditunjukkan pada kelompok V yang waktu penurunan refleks nyeri dan waktu hilangnya rasa nyeri lebih cepat dibandingkan kelompok III dan IV. Waktu hilangnya rasa nyeri pada kelompok V juga menunjukkan hasil yang sama dengan kelompok VI (kelompok pembanding). Pada kelompok VI belum terjadi penurunan jumlah refleks nyeri saat menit ke-30 hingga jam ke-1. Jumlah refleks nyeri pada menit ke-30 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-1. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-1 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-2. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-2 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-4. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-4 tidak berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-6. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-6 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-8. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-8 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-10. Jumlah refleks nyeri pada jam ke-10 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-12 dan jumlah refleks nyeri pada jam ke-12 berbeda nyata terhadap jumlah refleks nyeri pada jam ke-14. Penurunan rasa nyeri dimulai pada jam ke-2 dan hilangnya rasa nyeri pada hewan percobaan kelompok VI dimulai pada jam ke-10. Hal ini disebabkan karena hewan percobaan pada kelompok VI diberi sediaan pembanding yaitu suspensi natrium diklofenak.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) dapat berkhasiat sebagai analgetik pada tikus yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1% pada dosis 100 mg/ kg BB, 300 mg/ kg BB, dan 1000 mg/kg BB.
2. Peningkatan dosis dapat meningkatkan aktifitas analgetik ekstrak etanol daun encok.

3. Peningkatan dosis dapat mempercepat waktu mulai hilang nyeri pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan larutan AgNO<sub>3</sub> 1% .

## Saran

Disarankan pada peneliti selanjutnya untuk dapat melakukan pengembangan farmasetik terhadap ekstrak etanol daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) sebagai pengobatan nyeri sendi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A., Achdiat, A. Arizal, A., 2008, *Penyakit di Usia Tua*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Maharani, E.P, 2007, *Faktor-Faktor Resiko Osteoarthritis Lutut*, Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang, 15-17
- McGowan, A.J, 2003, *Perspective on the future of bone and joint disease*, The Journal of Rheumatology, Vol 30, 62-64
- Poeloengan, M., 2009, Aktivitas Air Perasan dan ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri Yang Diisolasi dari Sapi Mastitis Subklinis, *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, Bogor.
- Setiyohadi, B., dan Isbagio, H., 2009, *Nyeri, Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi V, editor: Sudoyo, A., Setiyohadi, B., Idrus, A., Simadibrata, M., Siti, S., Interna Publishing, Jakarta
- Syahid, S.F. dan Kristina, N.N., 2008, Multiplikasi Tunas, Aklimatisasi, dan Analisis Mutu Simplisia Daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.) Asal Kultur In Vitro Periode Panjang, *Bul Littro*, Vol.XIX No.2, 117-128

## FORMULASI KRIM TABIR SURYA DARI KOMBINASI ETIL p – METOKSISINAMAT DENGAN KATEKIN

Rini Agustin\*, Yulida Oktadefitri, Henny Lucida

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

### ABSTRAK

Sebuah studi pada formulasi krim tabir surya yang mengandung kombinasi etil p-metoksisinamat (5%) dan berbagai konsentrasi gambir "katekin" (0; 0,5 dan 1%) telah dilakukan. Evaluasi krim meliputi pemerian, homogenitas, nilai pH, uji menyebar, uji iritasi kulit, uji daya tercuci, pemisahan fasa (kestabilan fisik) dan uji efektivitas SPF. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua formula yang stabil tanpa perbedaan signifikan dalam ukuran selama 6 minggu penyimpanan. Uji efektivitas perlindungan matahari menunjukkan bahwa golongan katekin pada konsentrasi 0,5 dan 1% secara signifikan mempengaruhi perlindungan tabir surya etil p-metoksisinamat 5%. Katekin meningkatkan efektivitas perlindungan matahari senyawa etil p-metoksisinamat terhadap sinar UV-B ( $p < 0,05$ ).

**Kata kunci:** Etil p-metoksisinamat, katekin, tabir surya.

### PENDAHULUAN

Sinar matahari mempunyai efek baik yang menguntungkan bagi kesehatan manusia maupun yang merugikan, tergantung dari frekuensi dan lamanya sinar matahari mengenai kulit, intensitas matahari serta kepekaan seseorang (Balsam and Sagarin, 1972). Efek merugikan yang dapat ditimbulkan oleh radiasi ultraviolet pada kulit adalah terjadinya kerusakan epidermis yang biasa disebut dengan sengatan surya, pigmentasi, pengkerutan kulit, penuaan kulit dini, dan pada penyinaran yang lama dibawah terik matahari dapat mengakibatkan perubahan pada jaringan pengikat dalam lapisan korneum (Gosfel and Wuest, 1981).

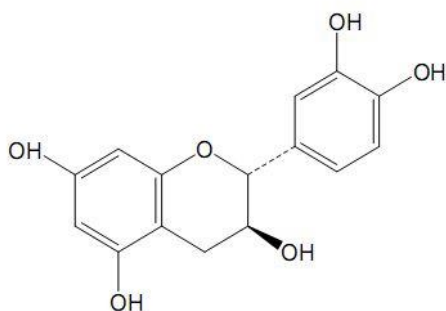
Spektrum ultraviolet yang sampai ke bumi yaitu UV-A dengan panjang gelombang 320-400 nm menyebabkan pigmentasi dan UV-B dengan panjang gelombang 290-320 nm menyebabkan eritema. Sedangkan UV-C dengan panjang gelombang yang lebih kecil dari 290 nm tidak sampai ke bumi karena tersaring oleh ozon (Wilkinson, *et al.*, 1982).

Kulit manusia sesungguhnya telah memiliki sistem perlindungan alamiah terhadap efek

sinar matahari yang merugikan dengan cara penebalan stratum korneum dan pigmentasi kulit. Namun tidak efektif untuk menahan kontak dengan sinar matahari yang berlebih (Departemen Kesehatan RI, 1985). Untuk mengatasinya diperlukan perlindungan tambahan, seperti menggunakan sediaan tabir surya. Sediaan tabir surya adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk maksud menyerap secara efektif sinar matahari terutama didaerah gelombang ultraviolet sehingga dapat mencegah terjadinya gangguan kulit oleh sinar matahari. Tabir surya dapat dibuat dalam berbagai bentuk sediaan seperti : krim, losio dan salep (Departemen Kesehatan RI, 1985).

Indonesia, khususnya Sumatera Barat kaya akan tanaman obat tradisional dengan kandungan bahan alam, diantaranya adalah gambir yang merupakan ekstrak kering dari ranting dan daun tanaman *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. yang termasuk dalam Famili Rubiaceae yang merupakan komoditas ekspor Indonesia. Indonesia merupakan negara pemasok utama gambir dunia (80%). Ekstrak gambir mengandung senyawa

katekin merupakan komponen utama serta beberapa komponen lain seperti asam kateku tanat, kuersetin, kateku merah, gambir flouresin, lemak dan lilin. Dimana katekin merupakan senyawa flavonoid yang termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktifitas sebagai obat.



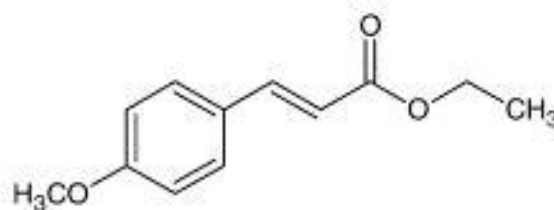
Gambar 1. Sturktur kimia katekin (Azad, *et al.*, 2001)

Penelitian yang berkaitan dengan aktivitas ekstrak gambir telah banyak dilakukan diantaranya aktivitas antioksidan dan antibakteri dari turunan metil ekstrak etanol daun gambir (Kresnawaty dan Zainudin, 2009), sebagai antiseptik mulut (Lucida dan Bakhtiar, 2007), dan gambir sebagai imunodilator (Ismail, *et al.*, 2009). Beberapa aktivitas ekstrak gambir di atas sebagian besar disebabkan oleh katekin yang terkandung di dalam gambir. Selain uji aktivitas ekstrak gambir, telah dilakukan juga beberapa uji aktivitas dari katekin, diantaranya katekin sebagai antimikroba (Dogra, 1987), sebagai anti spasmodik, bronkodilator dan vasodilator (Ghayur, *et al.*, 2007). Untuk penggunaan sebagai kosmetik, telah dilakukan uji diantaranya sebagai antiaging (Maurya dan Rizvi, 2009).

Dari bahan sintetis turunan senyawa sinamat termasuk kelompok fenolik alam dari golongan fenil propanoid salah satu diantaranya etil p-metoksisinamat sebagai

kandungan utama dari sediaan tabir surya yang telah dikenal aktifitas biologis dan farmakologis. Senyawa ini memperlihatkan aktifitas serapan maksimum 308nm (daerah UV-B) dan bersifat sebagai UV filter.

Senyawa turunan sinamat mudah dikenal karena kromatograf kertasnya memperlihatkan bercak berflouresensi biru sampai hijau dibawah sinar ultraviolet. Spektrum ultraviolet senyawa ini memperlihatkan 2 sampai 3 serapan disekitar 220, 270 dan 330 nm (Fahmi, 1987). Senyawa ini telah beredar dipasaran dalam bentuk krim dan losio, umumnya dikombinasikan dengan vitamin E, senyawa penyerap UV-A, UV-B dan lainnya. Contoh tabir surya yang mengandung etil p-metoksisinamat adalah Uvistik dan Parasol dengan kadar sampai 10% (Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, 1997).



Gambar 2. Rumus bangun etil p-metoksisinamat (Chemicalbook, 2010).

Senyawa katekin dan etil p-metoksisinamat dapat dikombinasikan sebagai tabir surya, dimana etil p-metoksisinamat mempunyai perlindungan yang baik terhadap sinar matahari yang dapat memantulkan dan menghamburkan radiasi sinar UV sedangkan senyawa katekin berfungsi sebagai antioksidan alami biasanya lebih diminati karena tingkat keamanannya yang lebih baik dan penting dalam melawan radikal bebas.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Timbangan analitik (Denver Instrument), pH meter (Accumet®), lemari pendingin, oven, ultrasonikasi dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Pharmaspec 1700) serta alat gelas standar lainnya.

Etil p - metoksisinamat, katekin, etanol 95%, asam stearat, setil alkohol, propilenglikol, gliserin, trietanolamin, metilparaben, cera alba, parafin cair, tween 80, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaOH, aquadest, metilen biru.

### Pemeriksaan Bahan Baku

Pemeriksaan bahan baku dilakukan menurut persyaratan Farmakope Indonesia

edisi IV tahun 1995 meliputi pengamatan organoleptis (bentuk, warna dan bau), dan uji kelarutan dan pemeriksaan etil p - metoksisinamat berdasarkan *Certificate of Analysis BASF South East Asia Pte Ltd.*

### Pembuatan Basis Krim

Sebelum formulasi krim tabir surya, terlebih dahulu dilakukan orientasi untuk memilih basis krim yang baik, yaitu basis yang memiliki penampilan fisik terbaik. Meliputi tekstur yang lembut, halus serta mempunyai pH yang relatif stabil

Tabel I. Formula Orientasi Pemilihan Basis Krim (Yulia, 2009)

Bahan	Formula basis (%)		
	FA	FB	FC
Asam stearat	10	3	3
Setil alkohol	3	4	4
Propilen glikol	15	-	-
Gliserin	30	2	2
Trietanolamin	1,5	1,2	-
Cera alba	-	1	1
Parafin cair	-	6	6
Tween 80	-	-	3
Metil paraben	0,1	0,1	0,1
Dapar fosfat pH 7,4 hingga	-	100	100
Air suling hingga	100	-	-

Basis yang digunakan tipe emulsi minyak dalam air (M/A). Bahan yang terdapat dalam formulasi dibagi menjadi 2 kelompok yaitu fase minyak dan fase air. Pada masing-masing formula, fase minyak dilebur dalam cawan penguap diatas waterbath pada temperatur  $\pm 75^{\circ}\text{C}$  (campuran pertama), dan fase air dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,4  $\pm 75^{\circ}\text{C}$  (campuran kedua). Campuran pertama dan kedua dimasukkan ke dalam mortir yang telah dipanaskan terlebih dahulu. Campuran diaduk hingga homogen dan membentuk massa krim. Ditambahkan metil paraben dan gliserin sedikit demi sedikit sambil digerus hingga homogen.

### Evaluasi Basis Krim

#### a. Pemeriksaan organoleptis meliputi bau, warna, homogenitas

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan cara : sediaan ditimbang 0,1 g kemudian dioleskan secara merata dan tipis pada kaca arloji. Krim harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya bintik bintik (Depkes RI, 1985). Pemeriksaan dilakukan terhadap krim yang baru dibuat dan yang telah disimpan selama hari ke 7, 14, 21, dan hari ke-28.

*b. Pemeriksaan pH krim*

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat tersebut dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Kalibrasi dilakukan dengan menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 10. Pemeriksaan pH dilakukan dengan mencelupkan elektroda ke dalam 1 gram sediaan krim yang diencerkan dengan air suling hingga 10 ml (Depkes RI, 1985).

*c. Pemeriksaan daya menyebar*

Sediaan sebanyak 0,5 gram diletakkan dengan hati-hati diatas kaca transparan yang dilapisi kertas grafik, dibiarkan sesaat (15 detik) dan dihitung luas daerah yang diberikan oleh basis, lalu ditutup dengan plastik transparan. Kemudian diberi beban tertentu diatasnya (1, 3, 5, dan 7 gram) dan dibiarkan selama 60 detik. Lalu hitung pertambahan luas yang diberikan oleh basis (Voigt, 1994).

*d. Pemeriksaan tipe krim*

Pemeriksaan tipe krim dilakukan dengan cara memberikan satu tetes larutan metilen biru pada 0,1 gram krim, kemudian diamati penyebaran warna metilen biru dalam sediaan dibawah mikroskop. Jika warna menyebar secara merata pada sediaan krim, berarti tipe krim adalah minyak dalam air (M/A), tetapi jika warna hanya berupa bintik-bintik, berarti tipe krim adalah air dalam minyak (A/M) (Depkes RI, 1985).

*Pembuatan Krim Tabir Surya*

Setelah dilakukan orientasi terhadap basis krim yang akan digunakan, kemudian ditentukan formula krim tabir surya yang mengandung bahan aktif etil p-metoksisinamat dan katekin. Basis krim yang dipilih yaitu formula C karena setelah penyimpanan selama 28 hari diperoleh pH yang relatif stabil pada rentang 7,0 - 7,3 dan penampilan fisik serta daya menyebar yang paling baik.

Tabel II. Formula Sediaan Krim Tabir Surya

Bahan	Formula (%)			
	F0	F1	F2	F3
Etil p - metoksisinamat	0	5	5	5
Katekin	0	0	0,5	1
Basis krim add 100				

Katekin ditimbang sejumlah yang dibutuhkan mulai dari konsentrasi 0 – 1 %. Katekin yang ditimbang ditetesi sedikit etanol 96%. Etil p-metoksisinamat ditimbang sejumlah yang dibutuhkan mulai dengan konsentrasi 5%. Etil p-metoksisinamat dan katekin digerus homogen dalam lumpang, kemudian ditambahkan dasar krim lebih kurang sama banyak dengan zat aktif lalu gerus sampai homogen. Selanjutnya ditambahkan sisa dasar krim, gerus sampai diperoleh krim yang homogen.

Evaluasi Sediaan Krim Tabir Surya Meliputi Evaluasi Fisik dan Evaluasi Kimia

A. Evaluasi fisik terdiri dari :

*1. Pemeriksaan pemerian*

Pemeriksaan pemerian sediaan krim tabir surya terdiri dari pemeriksaan bentuk, wana, dan bau (Depkes RI, 1985).

*2. Pemeriksaan organoleptis homogenitas*

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan cara : sediaan ditimbang 0,1 g kemudiaan dioleskan secara merata dan tipis pada kaca arloji. Krim harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya bintik bintik (Depkes RI, 1985). Pemeriksaan dilakukan terhadap krim yang baru dibuat dan yang telah disimpan selama hari ke 7, 14, 21, dan hari ke-28.

*3. Pemeriksaan pH*

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat tersebut dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Kalibrasi dilakukan dengan menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 10. Pemeriksaan pH dilakukan dengan



mencelupkan elektroda ke dalam 1 gram krim yang diencerkan dengan air suling hingga 10 ml (Depkes RI, 1985).

#### 4. Pengujian Iritasi Kulit

Uji iritasi kulit dilakukan terhadap manusia dengan cara uji tempel tertutup (Wasitaatmadja, 1997). Krim ditimbang sebanyak 0,1 gram lalu dioleskan pada lengan bagian dalam dengan diameter 2 cm, lalu ditutup dengan kain kasa dan plester. Lihat gejala yang timbul setelah 24 jam. Pemeriksaan ini dilakukan terhadap lima orang panelis (Wathoni, et al., 2009).

#### 5. Pemeriksaan Daya Tercuci Krim

Pemeriksaan daya tercuci krim dilakukan dengan cara krim ditimbang 1 gram, oleskan pada telapak tangan kemudian dicuci dengan sejumlah volume air sambil membilas tangan secara periodik. Air dilewatkan dari buret makrometer, amati secara visual ada atau tidak krim ditangan (Jenkins, 1957).

#### 6. Pemeriksaan stabilitas krim dengan Metoda Uji Pemisahan Fase dengan Metode Freeze and Thaw

Pemeriksaan stabilitas krim dengan Metoda Uji Pemisahan Fase dengan *Metode Freeze and Thaw* dengan cara sediaan krim untuk masing-masing formula ditimbang sebanyak 2 g dan dimasukkan ke dalam 8 vial yang ditutup rapat. Sebanyak 4 vial digunakan sebagai kontrol yang disimpan pada suhu 25°C dan 4 vial akan digunakan untuk siklus *Freeze and Thaw* dengan penyimpanan suhu 4°C pada 48 jam pertama dan suhu 40°C pada 48 jam berikutnya. Setelah 48 jam pertama dengan penyimpanan 4°C, krim dalam masing-masing vial diambil dioleskan sedikit pada kaca objek untuk diamati ukuran globul dari sejumlah 50 globul di bawah mikroskop. Sediaan krim dalam vial tersebut selanjutnya disimpan pada suhu 40°C selama 48 jam. Setelah 48 jam, krim dalam masing-masing vial diambil dioleskan sedikit pada kaca objek untuk diamati ukuran globul dari sejumlah 50 globul di bawah mikroskop (Yulia, 2009).

*Siklus Freeze and Thaw* terdiri dari satu rentang waktu penyimpanan pada suhu 4°C dan satu rentang waktu penyimpanan pada suhu 40°C, dilanjutkan selama sediaan masih baik secara fisik. Sediaan dikatakan stabil bila telah melewati 6 siklus tidak terjadi perubahan ukuran globul secara nyata. Diameter 50 globul setelah setiap penyimpanan diukur menggunakan mikrometer. Hasil pengukuran diameter globul diolah secara statistik menggunakan uji t-student berpasangan. Perhitungan T-student untuk membandingkan ukuran diameter globul sediaan krim tabir surya dalam pengujian *Freeze and Thaw*

$$T \text{ hitung} = \frac{|X_1 - X_2|}{\sqrt{(S_1^2 / n_1) + (S_2^2 / n_2)}}$$

Diketahui:

n (jumlah sampel) 50

Tingkat kepercayaan (95%)

Derajat kebebasan (n1+n2)-2

X1 = diameter globul rata-rata sediaan krim suhu pengujian

X2 = diameter globul rata-rata kontrol pada suhu 25°C

S1 = Simpangan baku sediaan krim

S2 = Simpangan baku kontrol

#### B. Evaluasi Kimia

Penentuan efektifitas sediaan krim tabir surya meliputi :

##### 1. Menentukan nilai SPF (*Sun Protection Faktor*)

Penentuan Efektivitas Sediaan Tabir Surya dilakukan dengan cara setiap formula ditimbang sebanyak 250 mg. Dioleskan merata pada kaca objek kemudian diberi perlakuan dengan tidak diberikan penyinaran dan disinari di bawah sinar ultraviolet. Krim yang diperlakukan tanpa penyinaran maupun yang diberi penyinaran dilarutkan dalam etanol 95% hingga 50,0 mL dan diultrasonik hingga krim terdispersi seluruhnya dalam pelarut kemudian disaring. Dipipet 1,0 mL filtrat dan ditambahkan etanol 95% hingga 25,0 mL. Selanjutnya diukur serapan larutan dari tiap formula dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis setiap 5 nm pada rentang panjang

gelombang 290-400 nm untuk penentuan SPF. Selanjutnya angka SPF dihitung dengan persamaan sebagai berikut (Pissavini dan Ferrero, 2004) :

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} E(\lambda) \epsilon(\lambda)}{\sum_{290}^{400} E(\lambda) \epsilon(\lambda) / PF(\lambda)}$$

Dimana  $E(\lambda)$   $\epsilon(\lambda)$  adalah tetapan hubungan efek eritemogenik dengan intensitas radiasi pada  $\lambda$  290-400 nm.

Dimana:

$E(\lambda)$  = Intensitas cahaya matahari pada panjang gelombang  $\lambda$

$\epsilon(\lambda)$  = Efek eritemogenik dari radiasi pada panjang gelombang  $\lambda$

$PF(\lambda)$  = Faktor proteksi pada panjang gelombang  $\lambda$  (1/T)

T = Transmittan (10-abs)

## 2. Menentukan % Transmisi eritema (%Te) dan % Transmisi pigmentasi (%Tp)

Efektivitas sediaan tabir surya dapat dilakukan dengan metode penentuan % transmisi eritema (%Te) dan % transmisi pigmentasi (%Tp) (Balsam, 1972) dan (Jellinek, 1970).

### a. Perhitungan transmisi

Transmisi merupakan persentase sinar yang diteruskan oleh sediaan tabir surya. Dari nilai serapan (A) yang diperoleh kemudian dihitung nilai serapan untuk 1 g/l, selanjutnya ditentukan nilai transmisi (T) 1 g/l dengan menggunakan rumus  $A = -\log T$ , dimana (A =absorban, T = nilai transmisi)

### b. Perhitungan transmisi eritema dan transmisi pigmentasi

Nilai transmisi eritema yaitu jumlah energi sinar ultraviolet penyebab eritema pada panjang gelombang 292,5 – 337,5 nm. Nilai transmisi eritema didapat dari hasil perkalian masing-masing nilai transmisi (T) dengan faktor keefektifan eritema (Fe) pada panjang gelombang penyebab eritema. Sedangkan nilai transmisi pigmentasi merupakan jumlah energi sinar ultraviolet penyebab pigmentasi pada panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm yang diteruskan oleh sediaan tabir surya. Nilai transmisi pigmentasi didapat dari hasil perkalian masing-masing nilai transmisi (T)

dengan faktor keefektifan pigmentasi (Fp) pada panjang gelombang penyebab pigmentasi. Jumlah energi sinar ultraviolet penyebab eritema adalah penjumlahan hasil perkalian transmisi dengan faktor keefektifan eritema pada panjang gelombang 292,5 – 337,5 nm, sedangkan jumlah energi sinar ultraviolet penyebab pigmentasi adalah penjumlahan hasil perkalian transmisi dengan faktor keefektifan pigmentasi pada panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm.

c. Perhitungan nilai persentase transmisi eritema dan nilai persentase transmisi pigmentasi, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Transmisi eritema} \\ (Te) = \frac{\sum Ee}{\sum Fe} = \frac{\sum (TxFe)}{\sum Fe}$$

$$\% \text{ Transmisi pigmentasi} \\ (Tp) = \frac{\sum Ep}{\sum Fp} = \frac{\sum (TxTp)}{\sum Fp}$$

Keterangan : Ee = Energi eritema

Ep = Energi pigmentasi

T = Transmisi

Fe = Faktor keefektifan eritema

Fp = Faktor keefektifan pigmentasi

### d. Penilaian efektifitas sediaan tabir surya (Balsam, 1972)

Sediaan tabir surya dapat dikategorikan sebagai Sunblock yaitu sediaan yang dapat menyerap hampir semua sinar UV-B dan sinar UV-A apabila memiliki persentase transmisi eritema 1% dan persentase transmisi pigmentasi 3-40%, jika persentase transmisi eritema 6-18% dan persentase transmisi pigmentasi 45-86% dikategorikan sebagai Suntan atau dapat dikatakan suatu bahan yang menyerap sebagian besar sinar UV-B dan menyerap sedikit sinar UV-A (Cumpelik, 1972).

Tabel III. Faktor keefektifan eritema pada panjang gelombang 292,5 – 337,5 nm( Balsam, 1972)

Panjang gelombang $\lambda$ (nm)	Energi rata – rata ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )	Keefektif an relatif	Faktor keefektifan eritema ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )
292,5	1,7	0,67000	1,139
297,5	7,0	0,93000	6,51
302,5	20,0	0,50000	10
307,5	36,5	0,09800	3,577
312,5	62,0	0,01570	0,973
317,5	90,0	0,00630	0,567
322,5	130,0	0,00350	0,455
327,5	170,0	0,00170	0,289
332,5	208,5	0,00068	0,129
337,5	228,5	0,00020	0,0456

Dari kolom faktor keefektifan eritema jumlah gelombang 292,5 - 337,5 nm adalah 23,6846 total energi radiasi sinar matahari yang ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ).  
menimbulkan eritema pada rentang panjang

Tabel IV. Faktor keefektifan pigmentasi pada panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm ( Balsam, 1972)

Panjang gelombang $\lambda$ (nm)	Energi rata – rata ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )	Keefektifan relatif	Faktor keefektifan pigmentasi ( $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ )
292,5	1,7	0,6500	1,105
297,5	7,0	0,9600	6,72
302,5	20,0	0,5000	10
307,5	36,5	0,0550	2,0075
312,5	62,0	0,0220	1,364
317,5	90,0	0,0125	1,125
322,5	130,0	0,0083	1,079
327,5	170,0	0,0060	1,02
332,5	208,0	0,0046	0,936
337,5	228,0	0,0035	0,798
342,5	239,0	0,0028	0,669
347,5	248,0	0,0023	0,57
352,5	257,0	0,0019	0,488
357,5	268,0	0,0016	0,456
362,5	274,0	0,0013	0,356
367,5	282,0	0,0011	0,31
372,5	289,0	0,009	0,26

Jika dihitung dari kolom faktor keefektifan pigmentasi pada tabel II.4 jumlah total energi radiasi sinar matahari yang menimbulkan pigmentasi adalah 29,2635  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . Tetapi hanya sebagian kecil yang dapat menimbulkan reaksi pigmentasi yaitu pada

rentang panjang gelombang 322,5 – 372,5 nm, sedangkan sisanya efektif menimbulkan eritema. Sehingga jumlah total energi radiasi matahari yang dapat menimbulkan pigmentasi adalah 6,9420  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ .

## HASIL DAN DISKUSI

### *Pemeriksaan Bahan Baku*

1. Pemeriksaan bahan baku eksipien telah memenuhi persyaratan dalam Farmakope Indonesia IV meliputi pemerian dan kelarutan.
2. Pemeriksaan Etil p-Metoksisinamat telah memenuhi persyaratan *Certificate of Analysis BASF South East Asia Pte Ltd.*

### *Evaluasi Basis Krim*

1. Pemeriksaan organoleptis basis krim tabir surya yaitu basis berwarna putih dan tidak berbau. Pemerian ini relatif tidak berubah selama 5 minggu penyimpanan.
2. Hasil pemeriksaan pH basis krim tabir surya selama 25 hari penyimpanan menunjukkan bahwa basis C mempunyai pH yang paling stabil diantara basis A dan B, dengan rata-rata pH 7,1.
3. Hasil pemeriksaan daya menyebar basis krim tabir surya menunjukkan bahwa basis yang berbeda memberikan pertambahan luas yang berbeda ketika ditambahkan oleh beban tertentu. Basis C (menunjukkan daya penyebaran yang paling luas diantara basis B dan A).
4. Hasil pemeriksaan tipe krim basis menunjukkan bahwa krim sediaan merupakan tipe minyak dalam air.

### *Evaluasi Sediaan Krim Tabir Surya Meliputi Evaluasi Fisik dan Evaluasi Kimia*

#### *A. Evaluasi Fisik*

1. Pemeriksaan pemerian formulasi krim tabir surya dengan menggunakan kombinasi etil p-metoksisinamat dengan katekin pada berbagai konsentrasi meliputi bentuk, warna, bau, dan homogenitas yang dilakukan terhadap 5 formula setiap minggu. Keempat formula tidak mengalami perubahan selama

5 minggu penyimpanan. Pemeriksaan homogenitas bertujuan untuk melihat penyebaran zat aktif dalam sediaan (Yoshioka & Stella, 2002).

2. Hasil pemeriksaan pH krim tabir surya selama 5 minggu penyimpanan menunjukkan nilai pH rata-rata sediaan untuk Formula F0 yaitu  $6,85 \pm 0,054$ ; Formula F1 sebesar  $6,86 \pm 0,040$ ; Formula F2 sebesar  $6,83 \pm 0,051$  dan Formula F3 sebesar  $6,83 \pm 0,051$ . Nilai pH yang dapat ditolerir oleh kulit yaitu 4,2 sampai 6,5 (Wasitaatmadja, 1997), 5 sampai dengan 6,5 (Balsam & Sagarin, 1972).

3. Pemeriksaan daya tercuci krim menunjukkan hasil yang diperoleh pada sediaan krim dibutuhkan air 15 – 25 ml untuk membersihkan 1 gram sediaan. Hal ini menandakan bahwa sediaan mudah tercuci karena memiliki kandungan air yang tinggi.

4. Pada pemeriksaan uji iritasi kulit, pengujian ini dilakukan dengan cara uji tempel tertutup pada manusia yang berbadan sehat. Uji iritasi ini dilakukan pada lengan bagian dalam dan dilakukan pada 5 orang panelis (Wathoni, et al., 2009). Reaksi kulit yang dilihat adalah apakah kulit tampak kemerahan, gatal-gatal, atau bengkak (Jellinek, 1970). Dari hasil pengujian yang dilakukan tidak ada panelis yang mengalami kemerahan pada bagian kulit yang diberikan krim tabir surya. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa krim tabir surya telah memenuhi persyaratan uji iritasi kulit.

5. Hasil pengujian freeze and thaw dengan melihat ukuran diameter globul yang telah diolah dengan T-hitung menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan globul secara nyata

dari masing-masing formula krim tabir surya. Bila  $T\text{-hitung} < T\text{-tabel}$  (1,98) maka tidak terjadi perubahan globul secara nyata. Berdasarkan tabel  $T\text{-hitung}$  didapatkan nilai  $T\text{-hitung} < T\text{-tabel}$ .

#### B. Evaluasi Kimia

Hasil penentuan nilai SPF krim tabir surya tanpa penyinaran lampu UV dengan melihat nilai serapan (A) dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu Pharmaspec 1700) dan dihitung menggunakan persamaan perhitungan nilai SPF menunjukkan bahwa F3 memiliki nilai SPF tertinggi yaitu  $4,85 \pm 0,1$  dan diikuti berturut-turut F1, F2, F0 adalah  $4,52 \pm 0,005$ ;  $3,68 \pm 1,50$  dan  $0,95 \pm 0,001$ . Dan setelah dilakukan penyinaran terhadap sediaan krim tabir surya selama 1 jam penyinaran, 3 jam penyinaran, dan 5 jam penyinaran pada masing-masing formula didapatkan hasil bahwa formula yang mengandung kadar katekin 1% dan 0,5% dalam sediaan krim tabir surya memberikan nilai SPF yang relatif besar dibandingkan dengan formula yang hanya mengandung zat aktif etil p-metoksisinamat. Formula 3 dengan kandungan etil p-metoksisinamat 5% dan katekin 1% setelah dilakukan penyinaran lampu UV menunjukkan nilai SPF pada 1 jam penyinaran  $12,97 \pm 2,13$ ; pada 3 jam penyinaran  $11,58 \pm 1,03$  dan 5 jam penyinaran  $13,17 \pm 0,65$ , sedangkan Formula 2 dengan kadar katekin 0,5% menunjukkan nilai SPF pada 1 jam penyinaran  $6,97 \pm 0,95$ ; pada 3 jam penyinaran  $10,07 \pm 0,66$  dan 5 jam penyinaran  $10,36 \pm 2,18$ . Pada Formula 1 tanpa menggunakan katekin menunjukkan nilai SPF yang relatif stabil setelah penyinaran 1 jam, 3 jam, dan 5 jam yaitu  $7,18 \pm 2,52$ ;  $7,24 \pm 2,45$  dan  $7,56 \pm 3,03$ .

Pengujian efek Etil p-Metoksisinamat dan katekin dalam krim tabir surya dilakukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm, kemudian dihitung persentase transmisi eritema dan persentase pigmentasi. Dalam pengukuran efek tabir surya, dasar krim tidak menyerap di daerah panjang gelombang eritema dan

pigmentasi (292,5 – 372,5 nm) sehingga dasar krim tidak mempengaruhi penentuan efek Etil p-Metoksisinamat dan katekin sebagai tabir surya.

Efek tabir surya krim kombinasi Etil p-metoksisinamat dan katekin diukur pada masing-masing formula pada panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm. Terlebih dahulu krim dilarutkan dalam pelarut etanol sebelum dilakukan pengukuran serapan. Dari nilai serapan yang diperoleh kemudian dihitung persentase transmisi eritema dan persentase pigmentasi untuk masing – masing konsentrasi kombinasi etil p-metoksisinamat dan katekin menurut cara perhitungan dan ketetapan yang dikemukakan oleh Cumpelik dan Kreps. Sediaan tabir surya dianggap efektif sebagai sawar surya (sunblock) bila nilai persentase transmisi eritema kecil dari 1% dan persentase pigmentasi 3 – 40%, sedangkan sebagai sumba surya (suntan) bila nilai transmisi eritema 6 – 18% dan persentase pigmentasi 45 – 86%.

Penentuan persentase transmisi eritema/pigmentasi pada masing-masing formula krim tabir surya menunjukkan hasil persentase eritema pada Formula 1 adalah 0,089 %, Formula 2 adalah 0,15 % dan Formula 3 adalah 0,077 %, sedangkan hasil persentase pigmentasi pada Formula 1 adalah 48 %, Formula 2 adalah 51,41 % dan Formula 3 adalah 49,54%. Berdasarkan data diatas menunjukkan bahwa nilai persentase eritema pada tiap formula memenuhi rentang nilai persentase eritema yaitu  $< 1\%$  dan persentase pigmentasi pada masing-masing formula berkisar diatas rentang persentase pigmentasi yaitu 40% yang menunjukkan bahwa masing-masing formula krim tabir surya efektif sebagai sawar surya (sunblock). Peningkatan persentase pigmentasi mungkin disebabkan oleh pengaruh katekin yang efektif sebagai tabir surya walaupun peran tabir surya tidak dapat digantikan oleh katekin.

Penelitian ini menggunakan zat aktif etil p - metoksisinamat untuk diformulasi ke dalam bentuk sediaan krim tabir surya yang aktif sebagai perlindungan yang baik terhadap sinar matahari yang dapat memantulkan dan menghamburkan radiasi sinar UV yang dikombinasikan dengan katekin yang berfungsi sebagai antioksidan. Kombinasi katekin sebagai antioksidan diharapkan dapat melindungi kulit dari radikal bebas yang menyebabkan penuaan dini.

Sebelum formulasi krim tabir surya, terlebih dahulu dilakukan orientasi untuk memilih basis yang paling baik. Basis yang digunakan yaitu vanishing cream dengan tipe minyak dalam air. Pemilihan basis ini disebabkan karena zat aktif etil p-metoksisinamat bersifat lipofilik dan kelarutannya kecil di dalam air, yaitu 0,041 mg/L. Orientasi formulasi basis krim tabir surya dilakukan untuk memilih sediaan yang paling baik, yaitu sediaan yang memiliki penampilan fisik terbaik meliputi tekstur yang lembut, halus, serta memiliki pH yang relatif stabil dan daya menyebar yang lebih baik. Setelah pembuatan basis dilakukan, maka basis di evaluasi terlebih dahulu. Evaluasi yang dilakukan meliputi pemeriksaan pemerian, homogenitas, nilai pH, daya menyebar, dan tipe krim. Basis krim yang dipilih yaitu Formula C karena setelah penyimpanan selama 25 hari diperoleh pH yang relatif stabil pada rentang 7,0 - 7,1 serta pH dari basis harus mendekati pH fisiologis kulit agar tidak menimbulkan iritasi pada kulit.

Sediaan krim dibuat dengan 4 formula, terdiri dari Formula 0 (F0) yang merupakan basis saja, Formula 1 (F1) yang mengandung etil p-metoksisinamat 5%, Formula 2 (F2) mengandung etil p-metoksisinamat 5% dan katekin 0,5%; Formula 3 (F3) mengandung etil p-metoksisinamat 5% dan katekin 1%. Sediaan kemudian dievaluasi secara fisika dan kimia. Parameter fisika kimia yang akan dilakukan pada penelitian ini pada umumnya bertujuan untuk melihat kestabilan sediaan selama 5 minggu penyimpanan. Dalam parameter ini juga termasuk pemeriksaan organoleptis yang bertujuan untuk melihat

apakah selama penyimpanan terjadi perubahan bentuk, warna dan bau dari sediaan.

Kestabilan suatu sediaan merupakan salah satu faktor yang harus diperhatikan dalam pembuatan sediaan farmasi. Hal ini penting karena suatu sediaan diproduksi dalam jumlah yang besar dan memerlukan waktu yang lama untuk penyimpanan. Sediaan yang disimpan dalam waktu yang cukup lama dapat mengalami penguraian. Pemeriksaan stabilitas sediaan dengan pendinginan dan suhu kamar bertujuan untuk melihat apakah sediaan tidak memisah selama proses penyimpanan baik pada saat pendinginan maupun pada suhu panas selama 6 siklus. Penentuan nilai SPF digunakan untuk menggolongkan efektivitas setiap kombinasi sediaan. Suatu tabir surya dikatakan dapat memberikan perlindungan bila memiliki nilai SPF minimal 2. Konsentrasi kombinasi yang berbeda akan memberikan nilai SPF yang berbeda. Pada formula 0 (basis) dikatakan tidak memiliki efek sebagai tabir surya atau memiliki kategori efektivitas “tanpa perlindungan” karena nilai SPF-nya kurang dari 2. F1 dan F3 merupakan tabir surya dengan kategori “proteksi sedang” karena berada pada rentang nilai SPF 4 – 5. Untuk F2 termasuk kategori “proteksi minimal” karena berada pada rentang SPF 2-3.

Penentuan efektivitas sediaan tabir surya meliputi penentuan nilai SPF, % Transmisi eritema (%Te) dan % Transmisi pigmentasi (%Tp). Penentuan nilai SPF dan % Te adalah untuk menunjukkan efektivitas tabir surya terhadap sinar UV-B, sedangkan % Tp ditentukan untuk melihat efektivitas tabir surya terhadap sinar UV-A. Suatu tabir surya dikatakan memiliki efektivitas yang baik bila memiliki nilai SPF yang tinggi, serta % Te dan % Tp yang kecil.

Berdasarkan hasil penentuan nilai SPF menunjukkan bahwa kombinasi etil p-metoksisinamat sebagai zat aktif perlindungan terhadap sinar UV-B dengan katekin gambir sebagai antioksidan alami dapat meningkatkan proteksi maksimal dari sediaan tabir surya. Hal ini dapat dilihat dari

peningkatan nilai SPF yang berbeda pada masing-masing formula. Semakin tinggi kadar katekin yang dikombinasikan dengan etil p-metoksisinamat semakin baik kemampuan dalam meningkatkan efektifitas bahan aktif tabir surya dan efek photoprotective antioksidan bila digabungkan dengan tabir surya. Kombinasi dengan katekin pada Formula 3 sebanyak 1% memiliki nilai peningkatan SPF yang lebih tinggi dibandingkan dengan Formula 2 yang hanya mengandung kadar katekin sebanyak 0,5% dengan kadar etil p-metoksisinamat yang sama yaitu 5%. Katekin yang digunakan pada Formula 2 dan Formula 3 merupakan katekin murni. Berdasarkan literatur menyatakan bahwa gambir dapat menghambat pembentukan enzim elastase yang terbentuk karena paparan sinar UV. Gambir dapat menghambat aktifitas enzim elastase pada konsentrasi 0,001 sampai 10,0%. Kandungan utama gambir yang berpotensi sebagai anti penuaan dini adalah katekin (Agustin, 2012)

Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa antioksidan yang dioleskan dapat membantu melindungi kulit dari kerusakan akibat sinar matahari, walaupun antioksidan tidak dapat menggantikan fungsi tabir surya, tetapi bila penggunaan keduanya dikombinasikan akan menjadi sangat efektif dan merupakan

peningkatan nilai SPF yang berbeda pada masing-masing formula. Semakin tinggi kadar katekin yang dikombinasikan dengan etil p-metoksisinamat semakin baik kemampuan dalam meningkatkan efektifitas bahan aktif tabir surya dan efek photoprotective antioksidan bila digabungkan dengan tabir surya. Kombinasi dengan katekin pada Formula 3 sebanyak 1% memiliki nilai peningkatan SPF yang lebih tinggi dibandingkan dengan Formula 2 yang hanya mengandung kadar katekin sebanyak 0,5% dengan kadar etil p-metoksisinamat yang sama yaitu 5%. Katekin yang digunakan pada Formula 2 dan Formula 3 merupakan katekin murni. Berdasarkan literatur menyatakan bahwa gambir dapat menghambat pembentukan enzim elastase yang terbentuk karena paparan sinar UV. Gambir dapat menghambat aktifitas enzim elastase pada konsentrasi 0,001 sampai 10,0%. Kandungan utama gambir yang berpotensi sebagai anti penuaan dini adalah katekin (Agustin, 2012)

Setelah dilakukan pengujian efektifitas sediaan krim tabir surya pada masing-masing formula menunjukkan bahwa konsentrasi katekin yang dikombinasikan dengan tabir surya etil p-metoksisinamat berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) jika diolah secara statistik ANOVA satu arah dengan pengaruhnya terhadap peningkatan nilai SPF. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi katekin dengan etil p-metoksisinamat dalam bentuk sediaan krim tabir surya menyatakan bahwa katekin yang merupakan senyawa flavonoid alam dapat meningkatkan aktivitas sediaan tabir surya dengan kemungkinan terjadinya interaksi kimia antara katekin dengan etil p-metoksisinamat yang menyebabkan senyawa etil p-metoksisinamat yang bersifat fotolabil menjadi fotostabil sebagai perlindungan kulit terhadap sinar matahari.

Tabel V. Hasil Pengujian *Freeze and Thaw* Diameter Rata-rata Ukuran Globul Sediaan Tabir Surya

Formula	Diameter Rata-rata											
	Siklus 1		Siklus 2		Siklus 3		Siklus 4		Siklus 5		Siklus 6	
	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C
F0	7,33	8,88	7,24	9,92	9,31	9,53	10,38	10,76	10,93	10,32	10,44	10,63
F1	9,86	10,32	10,12	9,10	9,51	10,44	10,87	11,22	10,63	11,63	11,79	11,40
F2	14,05	12,65	14,10	11,96	12,38	10,80	14,20	12,17	13,10	13,63	15,13	14,24
F3	14,15	13,39	14,01	13,54	12,95	12,95	16,00	14,56	16,00	16,12	16,48	16,60

Tabel VI. Hasil Perhitungan *T-Student* Diameter Rata-rata Ukuran Globul Sediaan Terhadap Kontrol

Formula	T <sub>h</sub> Siklus-1		T <sub>h</sub> Siklus-2		T <sub>h</sub> Siklus-3		T <sub>h</sub> Siklus-4		T <sub>h</sub> Siklus-5		T <sub>h</sub> Siklus-6	
	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C	4°C	40°C
F0	0,21	0,03	0,23	0,15	0,08	0,13	0,24	0,35	0,35	0,26	0,26	0,26
F1	0,06	0,06	0,02	0,16	0,08	0,02	0,11	0,07	0,04	0,17	0,21	0,16
F2	1,62	0,15	0,11	0,05	0,00	0,13	0,16	0,16	0,06	0,12	0,28	0,15
F3	0,04	0,05	0,06	0,08	0,14	0,12	0,09	0,11	0,10	0,11	0,14	0,15

Keterangan:

Hasil pengujian menggunakan *T-student* dengan:

Jumlah sampel (n) = 50

Tingkat kepercayaan = 95%

Derajat kepercayaan = 95%

Derajat kebebasan = (n<sub>1</sub>+n<sub>2</sub>) -2

T tabel = 1,98

Bila T<sub>hitung</sub> < T<sub>tabel</sub> = tidak terjadi perubahan ukuran globul secara nyata.

Tabel VII. Hasil penentuan nilai SPF sediaan tabir surya sebelum dan setelah penyinaran

Formula	Penentuan <i>SPF</i> Sebelum dan Setelah Penyinaran			
	0 Jam	1 Jam	3 Jam	5 Jam
F0	0,95±0,001	1,03±0,02	1,03±0,04	1,05±0,06
F1	4,51±0,005	7,18±2,52	7,24±2,45	7,56±3,03
F2	3,68±1,50	6,97±0,95	10,07±0,66	10,36±2,18
F3	4,86±0,01	12,97±2,13	11,58±1,03	13,17±0,65

Keterangan:

<2 = Tanpa perlindungan

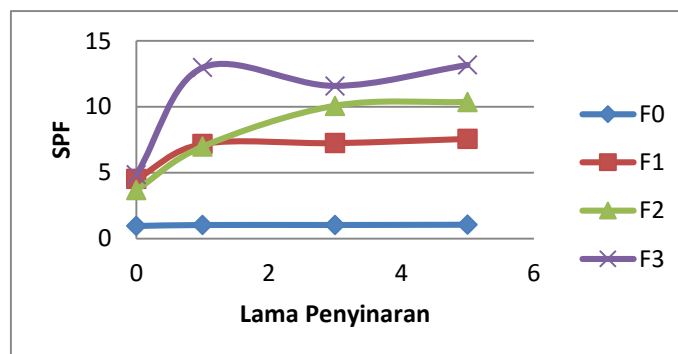
2 – 3 = Proteksi minimal

4 – 5 = Proteksi sedang

6 – 7 = Proteksi ekstra

8 – 14 = Proteksi maksimal

> 15 = Proteksi ultra



Gambar 3. Grafik hubungan lama penyinaran terhadap nilai SPF sediaan tabir surya



Tabel VIII. Hasil Perhitungan uji anova satu arah terhadap aktivitas nilai SPF sediaan tabir surya dengan keempat formula sebelum dan setelah penyinaran

# ANOVA

Nilai SPF Krim

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	195.574	3	65.191	9.595	.002
Within Groups	81.527	12	6.794		
Total	277.101	15			

Keterangan : Bila nilai Sig tabel < 0,05 menunjukkan bahwa data berpengaruh signifikan.

Tabel IX. Hasil penentuan % transmisi eritema (%Te) dan % transmisi pigmentasi (%Tp) sediaan krim tabir surya

Formula	% Te	%Tp
<b>F0</b>	124,24±0,195	525,43±0,68
<b>F1</b>	0,089±0,0001	48,00±0,064
<b>F2</b>	0,15±0,001	51,41±0,17
<b>F3</b>	0,077±0,0001	49,54±0,12

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- Katekin murni gambir dapat diformulasikan bersamaan dengan tabir surya etil p-metoksisinamat.
- Konsentrasi katekin 0,5 – 1% sebagai antioksidan yang dikombinasikan dengan etil p-metoksisinamat 5% menunjukkan bahwa katekin berpengaruh signifikan dapat meningkatkan efektivitas etil p-

metoksisinamat sebagai tabir surya yang telah diolah secara statistik ANOVA satu arah ( $p < 0,05$ ).

- Sediaan krim efektif sebagai tabir surya yang dikategorikan sebagai sawar surya (sunblock).

Disarankan pada peneliti selanjutnya untuk mengamati interaksi kimia yang terjadi dari kombinasi etil p-metoksisinamat dan katekin dari berbagai konsentrasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, S.N. (2012). *Enjoy With Sains Gambie (Uncaria Gambir Roxb)*. Diakses 1 April 2013 dari <http://rashekimfar.blogspot.com/>
- Azad, K.A., Ogiyama., Koichi., Sassa., & Takeshi. (2001). Isolation of (+)-catechin and a new polyphenolic compound in Bengal catechu, *Journal Wood Sci*, 47, 406-409.
- Balsam, M. S., & Sagarin, E. (Eds.). (1972). *Cosmetics: Science and technology* (2nd Ed., Vols. 1-3). New York: Interscience Publishers, Inc.
- BASF The Chemical Company, *Certificate of Analysis Uvinul MC 80*. PT. BASF Indonesia.
- Chemicalbook. (2010). *Ethyl 4-methoxycinnamate*, Diakses 31 Agustus 2013 dari <http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985). *Formularium Kosmetika Indonesia (Cetakan I)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Cumpelik, B.S. (1972). Analytical Procedures and Evaluation of Sunscreens. *Journal of The Society of Cosmetics Chemist*, 23, 333-345.
- Dogra, S.C. (1987). Antimicrobial Agents Used In Ancient India, *Indian Journal of History of Science*, 22(2): 164-169.
- Fahmi, R. (1987). *Sintesis Amida Turunan p-Methoxycinnamat*. (Tesis). Bandung: Fakultas Pasca Sarjana Institut Teknologi Bandung.
- Ghayur, M.N., Khan H., Gilani, A.H. (2007). Antispasmodic, Bronchodilator and Vasodilator Activities of (+)-Catechin, a Naturally Occurring Flavonoid, *Archives of Pharmacol Research*, 30(8): 970-975.
- Gosfel, A.T., & Wuest, J.R. (1981). Sunburn, Sunscreens and Photosensitivity. *American Pharmacy*, 21(5): 46-50.
- Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia. (1997). *Informasi Spesialite Obat (Vol 29)*. Jakarta: Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia.
- Ismail, S., & Asad, M. (2009). Immunomodulatory Activity Of Acacia Catechu, *Indian Journal Physiol Pharmacol*, 53(1), 25 – 33.
- Jellinek, J.S. (1970). *Formulation and function of cosmetics*. Penerjemah: G. L. Fenton. New York: Wiley-Interscience.
- Jenkins, G.L., et al., 1957, *Scoville's The Art of Compounding*, 9th Edition. New York: Mac Graw Hill Book Co. Inc.
- Kresnawaty, I., & Zainuddin, A. (2009). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Derivate Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir (*Uncaria gambir*). *Jurnal Littri*. 15(4): 145 – 151.
- Lucida, H., Bakhtiar, A., & Putri, A,W. (2007). *Formulasi sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir*. Padang: Universitas Andalas.
- Maurya, PK., & Rizvi, S.I. (2009). Protective role of tea catechins on erythrocytes subjected to oxidative stress during human aging. *Natural Product Research*, 23(12): 1072–1079.
- Paula'schoice. *UVA/UVB sun protection and the importance of antioxidants*, Diakses 20 April 2013 dari <http://www.paulaschoice-indo.com>
- Pissavini, M., & Ferrero, L. (2004). In Vitro Determination of Sun Protection Faktor, *Chemist and Head Sun Product Research, International Research & Development Center*, 1-5.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. (Edisi kelima)*. Penerjemah: S.N. Soewandhi. Yogyakarta. Gadjah Mada Univ. Press.
- Wasitaatmadja, S.M. (1997). *Penuntun Ilmu Kosmetik dan Medik*. Jakarta: UI Press.
- Wathoni, N., Rusdiana, T., dan Hutagaol, R.Y. (2009). Formulasi Gel Antioksidan Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga L. Willd*) dengan Menggunakan Basis Aqupec 505 HV. *Farmaka*, 7(1).

- Wilkinson, J.B., Moore, R.J., & Godwin, G. (1982). *Harry's Cosmeticology*. New York, London: Willy Interscience.
- Yulia. (2009). *Penentuan Komposisi Optimal Kombinasi Sulisobenzon dan Dietilamino Hidroksibenzoil Heksil Benzoat dalam Sediaan Krim Tabir Surya*. Bandung: Universitas Jenderal Achamad Yani.
- Yoshioka, S., & Stella, V.J. (2002). *Stability of Drugs and Dosage Form*. Moscow: Kluwer Academic.

## EFEK KURKUMA TERHADAP KADAR ALANINE AMINOTRANSFERASE PADA PEMAKAIAN OBAT ANTI TUBERKULOSA DI POLIKLINIK ANAK RSUD ACHMAD PROPINSI RIAU

Rita Agustin A<sup>1</sup>, Zullies Ikawati<sup>2</sup>, Amalia Setyati<sup>3</sup>

Poliklinik anak RSUD Arifin Achmad Propinsi Riau ,  
Farmasi Klinik Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

### ABSTRAK

Obat Anti tuberkulosa lini pertama yaitu isoniazid, rifampisin dan pirazinamid merupakan obat yang menginduksi kerusakan hati yang ditandai dengan meningkatnya *alanine aminotransferase* ( ALT ). Oleh sebab itu diperlukan hepatoprotektor untuk mencegah terjadinya kerusakan hati. Curcuma adalah salah satu yang mempunyai aktifitas sebagai hepatoprotektif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kejadian hepatotoksik karena pemberian OAT setelah dua bulan atau lebih pada pasien anak serta mengetahui efektifitas dari kurkuma sebagai hepatoprotektor.

Penelitian dilakukan dengan disain *Randomized Clinical Control Trial, single blind*, antara bulan November 2012 hingga Maret 2013 di poliklinik anak RSUD ArifinAchmad Propinsi Riau. Sebanyak 24 subyek yang termasuk kriteria inklusi dibagi menjadi dua kelompok secara acak ( kelompok uji dan kelompok kontrol ) masing-masing kelompok terdiri dari 12 subyek. Kelompok uji diberi curcuma tablet dan kelompok kontrol diberi plasebo selama satu bulan. Pemeriksaan darah dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan untuk mengetahui kadar ALT

Kadar ALT pada kedua kelompok setelah pemberian OAT tidak ada yang melewati batas normal dan perbedaan kadar ALT antara kelompok tidak bermakna dengan  $p > 0,05$ . Setelah perlakuan, pada kelompok uji terjadi penurunan rerata kadar ALT tetapi tidak bermakna (  $p > 0,05$  ) dan kelompok kontrol terjadi kenaikan kadar rerata ALT yang signifikan dengan  $p < 0,05$ , Sedangkan perbandingan selisih kadar ALT pada kedua kelompok signifikan dengan  $p < 0,05$ .

Dari hasil penelitian ini, tidak terjadi hepatotoksitas setelah pemberian OAT selama 2 bulan atau lebih dan pemberian curcuma dapat menurunkan kadar ALT dibandingkan dengan plasebo.

**Kata kunci:** Tuberkulosa, OAT, Hepatotoksik, *curcuma*

### PENDAHULUAN

Tuberkulosis adalah penyakit kuno, dan terbukti TB ditemukan di sisa-sisa peninggalan Mesir Kuno. Pada tahun 1882 ketika Robert Koch berhasil mengisolasi dan kultur *Mycobacterium tuberculosis* yang menunjukkan sifat menular. Munculnya radiografi, ditemukan lesi *cavitary* paru yang penting dalam evolusi penyakit ( Koda Kimble, 2009 ). Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*, yang sebagian besar ( 80%) menyerang paru-paru.

*Mycobacterium tuberculosis* termasuk basil gram positif, berbentuk batang, dinding selnya mengandung kompleks lipida-glikolipida serta lilin ( wax ) yang sulit ditembus zat kimia. Mikobakteri ini mempunyai sifat khusus yaitu tahan terhadap asam saat pewarnaan, sehingga disebut Basil Tahan Asam ( BTA ) ( Depkes RI, 2007)

Penularan TB dapat terjadi melalui batuk, bersin, bicara, meludah dan sebagainya yang keluar menjadi *droplet nuclei* dalam udara . Bila partikel ini dihirup

oleh orang sehat maka akan menempel pada jalan napas atau paru-paru. Partikel tersebut dapat masuk ke dalam *alveolar*, bila ukuran partikel kurang dari 5 mikrometer. Bila kuman menetap di jaringan paru maka ia akan tumbuh dan berkembang biak dalam sitoplasma makrofag. Di sini kuman dapat masuk ke organ tubuh lainnya( Katzung *et.al.*, 2010).

Anak-anak memiliki risiko lebih tinggi terkena infeksi daripada orang dewasa. Hal ini berkaitan dengan belum sempurnanya sistem pada anak baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Oleh sebab itu perlu penanganan khusus untuk mencegah terjadinya penyebaran TB pada bayi dan anak. ( Hoskyn W, 2003). Pada prinsipnya pengelolaan penyakit TB pada anak-anak, remaja dan dewasa adalah sama. Terapi standar tuberkulosis intrathoracic (penyakit paru dan/atau limfadenopati hilus) pada anak-anak yang direkomendasikan oleh *Centers for Disease Control and Prevention* ( CDC ) dan *American Academy of Pediatrics* (AAP ) adalah 6 bulan rejimen isoniazid dan rifampisin ditambah pirazinamid selama 1-2 bulan pengobatan ( Nelson , 2007 ).

Hepatotoksitas, gangguan gastrointestinal dan neurologis merupakan efek samping yang sering terjadi pada pengobatan TB. Hepatotoksitas adalah yang paling serius. Meningkatnya transaminase selama pengobatan TB adalah hal yang umum akan tetapi hepatotoksitas yang timbul jika diabaikan akan berakibat fatal. Isoniazid, rifampisin, pirazinamid adalah obat yang berpotensi mengakibatkan *drug induced liver injury* dengan istilah *Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity* disingkat ADTH ( Hoskyns, 2003).

INH diasetilasi oleh enzim *n-asetiltransferase 2* (NAT2) dan CYP2E1 dan menghasilkan toksin. Hidrazin merupakan penyebab hepatotoksitas pada penggunaan INH. Studi pada mikrosom liver tikus menunjukkan bahwa terbentuk radikal NO<sub>2</sub> selama proses metabolisme hidrazin secara oksidasi, yang dianggap penyebab utama hepatotoksitas. ADTH lebih mudah terjadi dan dapat menjadi parah pada kelompok

asetilator lambat, karena INH dihidrolisis langsung menjadi hidrazin serta terakumulasi sebagai asetil hidrazin yang berubah menjadi hidrazin (Tostmann *et.al.*, 2007) .

Pengobatan tuberkulosis anak pada terapi intensif menggunakan obat lini pertama yaitu isoniazid, rifampisin dan pirazinamid (Depkes, 2007 ). Penggunaan isoniazid dan rifampisin pada 8 – 12 minggu pertama dapat meningkatkan serum transaminase, dan mengalami hepatotoksitas ( Dipiro, 2008). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obat antituberkulosa pada anak dapat meningkatkan kadar *alanine aminotransferase* lebih dari 100 UI/L dan sebagian terjadi gejala hepatitis seperti *jaundice* ( Saukkonen, 2006 ).

*Curcuma sp.* adalah salah satu tanaman obat yang mempunyai aktifitas hepatoprotektif yang secara klinis dapat memperbaiki fungsi hati akibat adanya peradangan atau kerusakan pada hepatoseluler jaringan hati yang ditandai dengan meningkatnya kadar ALT (Hanani dan Mun'in, 2011 ). Tanaman yang biasanya aromatik dan karminatif, dan digunakan untuk mengobati gangguan pencernaan, hepatitis, penyakit kuning, diabetes, aterosklerosis dan infeksi bakteri. Spesies *Curcuma* yang populer adalah *C. longa*, *C. aromaticum* dan *C. xanthorrhiza* . Kandungan utama dari spesies *Curcuma* adalah kurkuminoid dan seskuiterpen. Curcumin adalah konstituen yang paling penting di antarkurkuminoid alami yang ditemukan dalam tanaman (Itokawa *et.al.*, 2008).. Dalam temulawak terdapat dua jenis kurkuminoid aktif dengan kadar yg relatif kecil ( sekitar 3 % ) bila dibandingkan dengan kadar kurkuminoid dalam kunyit ( 10% ) (pharmalab, 2012).

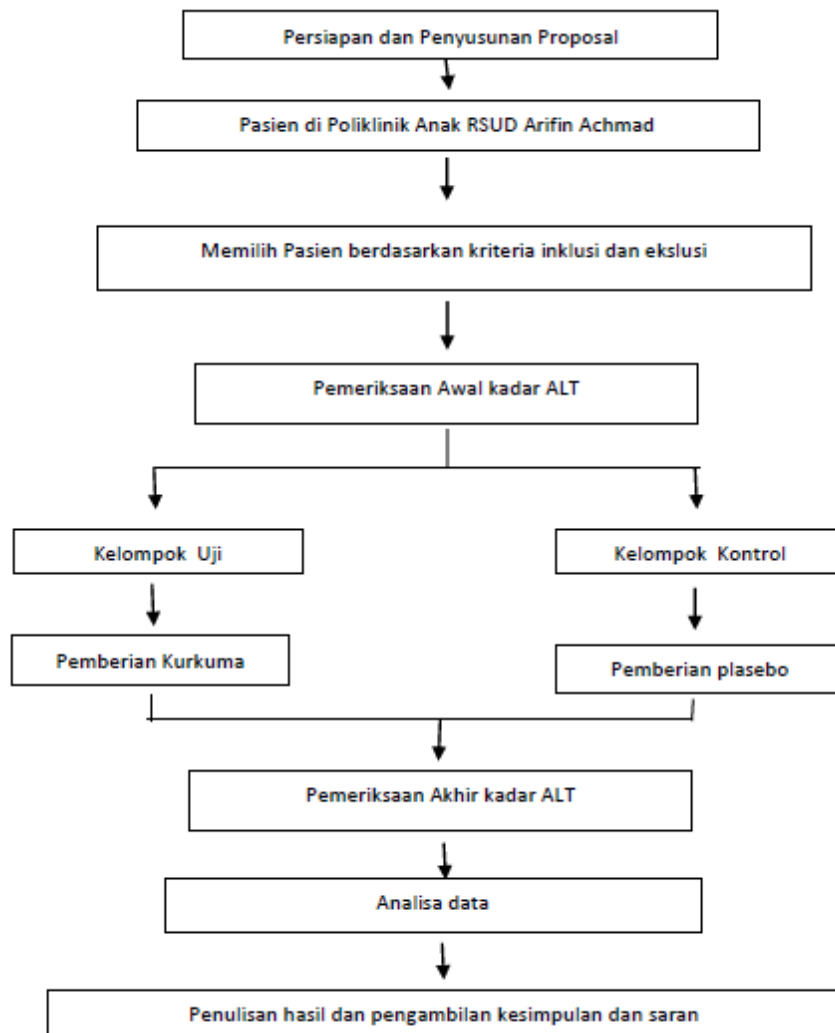
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terjadi hepatotoksitas pada anak setelah pemberian OAT selama 2 bulan atau lebih yang ditandai dengan peningkatan kadar ALT yang tinggi dan melihat efektifitas kurkuma dalam menurunkan kadar ALT tersebut.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di poliklinik anak RSUD Arifin Achmad Propinsi Riau, pada bulan November 2012 hingga Maret 2013, Rancangan penelitian ini adalah ekperimental , *randomized clinical control trial, single blind*, melakukan pemilihan subyek yang termasuk kriteria inklusi, kemudian dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok uji dan kelompok kontrol dengan sistem *block randomization*. Gambar 1 memperlihatkan pelaksanaan alur penelitian ini.

Kriteria inklusi adalah pasien anak dengan diagnosa TB, merupakan kasus baru

dan telah mendapat terapi intensif, tidak memiliki penyakit penyerta, berusia antara 1 – 16 tahun, pasien tidak mendapatkan obat lain yang dapat meningkatkan enzim hati, tidak mempunyai riwayat minum alkohol, bersedia ikut dalam penelitian ini yang disetujui oleh orangtua/keluarga pasien. Kriteria eksklusi adalah Pasien dengan status Gizi buruk, dengan TB berulang, pasien dengan penyakit penyerta yang mempengaruhi fungsi hati, Pasien menggunakan obat atau suplemen lain yang mempengaruhi fungsi hati



Gambar 1. Alur penelitian

Pada kedua kelompok dilakukan pemeriksaan awal laboratorium yaitu kadar ALT kemudian subyek kelompok uji diberikan curcuma X tablet dan subyek kelompok kontrol diberi plasebo selama 1 bulan. Dosis curcuma berdasarkan luas permukaan tubuh ( LPT ) subyek yang diberikan dalam kapsul yang sama dengan kapsul plasebo. Setelah perlakuan tersebut dilakukan kembali pemeriksaan kembali

kadar ALT. Dilakukan analisa data dengan menggunakan *independent t-test* untuk membandingkan karakteristik umum dan selisih kadar ALT kedua kelompok dan *paired t-test* untuk melihat kadar ALT sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok. Sebelum menganalisa, dilakukan uji distribusi normal, jika distribusi tidak normal maka analisa menggunakan *Mann-whitney* atau *Wilcoxon*.

## HASIL DAN DISKUSI

Ada 28 subyek yang masuk kriteria inklusi, 4 orang dieksklusi karena 3 orang pindah perawatan dan 1 orang dengan penyakit penyerta. Pada kelompok uji 12 orang dan kelompok kontrol 12 orang. Pada tabel 1

terlihat karakteristik dasar subyek pada kedua kelompok meliputi jenis kelamin, umur, lamanya terapi dan jenis penyakit tuberkulosis.

**Tabel 1. Karakteristik Dasar Subyek Penelitian**

Variabel	Jumlah (%)		Rerata $\pm$ SB		
	Kelompok Uji	Kelompok Kontrol	Uji	Plasebo	Nilai p
	n= 12	n=12			
<b>Jenis Kelamin (%)</b>					0,045 <sup>m</sup>
Laki-laki	9 (75,0 %)	4 (33,3%)			
Perempuan	3 ( 25,0%)	8 (66,7%)			
<b>Usia ( tahun )</b>			7,84 $\pm$ 4,57	6,24 $\pm$ 2,96	0,323*
<b>Lama OAT (bulan)</b>			2,50 $\pm$ 0,48	2,42 $\pm$ 0,47	0,661 <sup>m</sup>
<b>Jenis TB</b>					
TB Paru	11 (91,67%)	8 ( 75,00%)			0,140 <sup>m</sup>
TB kelenjar	1 ( 8,33%)	4 ( 25,00%)			

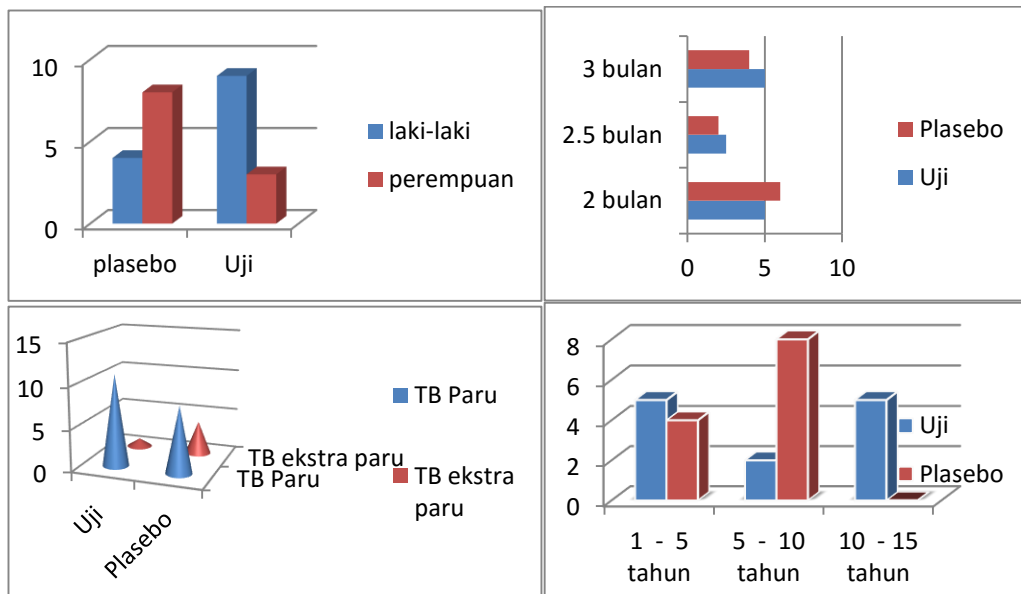
Ket: <sup>m</sup> : mann-whitney test , \* t-independent test

Karakteristik umur, lamanya terapi OAT dan jenis TB tidak berbeda secara signifikan dengan  $p < 0,05$  . Pada kelompok uji rerata umur adalah  $7,84 \pm 4,57$  sedangkan pada kelompok kontrol rerata umur  $6,24 \pm 2,96$  dengan  $p = 0,321$ , Lamanya terapi OAT pada kelompok uji rerata  $2,5 \pm 0,48$  dan

kelompok kontrol  $2,42 \pm 0,47$ , perbandingan ini tidak bermakna dengan nilai  $p = 0,661$  dan untuk jenis TB Tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok uji dan kelompok kontrol dengan  $p = 0,140$ , Jenis kelamin kedua kelompok terdapat perbedaan yang bermakna laki-laki lebih banyak

daripada perempuan dengan  $p = 0,045$ , Perbedaan lamanya terapi OAT dan jenis TB pada kedua kelompok tidak bermakna dengan nilai  $p > 0,05$  yaitu 0,661 dan 0,140, Pada penelitian Nakajo *et.al.*, 2008, rentang umur antara 3 bulan hingga 18 tahun dengan rerata umur 8 tahun dan jenis kelamin tidak ada yang predominan. Penelitian Donald *et.al.*, 1998, pemeriksaan nilai ALT setelah pemberian 8 minggu sedangkan penelitian yang dilakukan faella *et.al.*, 2006, terapi OAT selama 12 bulan hingga 18 bulan.

Terapi INH dapat menyebabkan peningkatan serum transaminase singkat yang biasanya muncul dalam 8 - 12 minggu pertama terapi (Dipiro, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Gonzales *et.al.*, 2003, membandingkan kasus TB paru dengan TB ekstra paru dan menunjukkan terdapat 28,6% kasus TB ekstra paru Berdasarkan analisis multivariate didapatkan bahwa usia dibawah 18 tahun OR = 2,0 dan  $p = 0,04$ , sirosis hati dengan OR = 2,3 dan  $p = 0,02$ .



**Gambar 2. Karakteristik umum Subyek**

**Tabel 2. Nilai ALT sebelum dan sesudah Pemberian curcuma dan plasebo**

Kelompok	ALT UI/L ( Rerata $\pm$ SB )		Nilai p	IK 95%	
	Sebelum n = 12	Sesudah n=12		Bawah	Atas
Uji	20,00 $\pm$ 6,56	17,67 $\pm$ 3,89	0,092 <sup>w</sup>	-0,564	5,23
Kontrol	17,67 $\pm$ 3,20	19,08 $\pm$ 3,03	0,045*	-2,729	-0,104

ket : <sup>w</sup>Uji wilcoxon \* uji t berpasangan



Pada tabel 2 terlihat hasil pemeriksaan awal kadar ALT pada subyek yang telah mendapatkan OAT selama 2 bulan atau menunjukkan tidak ada kejadian hepatotoksik karena kadar ALT pada semua subyek masih dibatas nilai normal dengan masing-masing rerata  $20,00 \pm 6,56$  dan kelompok kontrol  $17,67 \pm 3,20$ . Perbandingan antara kelompok uji dan kelompok kontrol tidak bermakna dengan nilai  $p = 0,348$ . Pemeriksaan akhir setelah pemberian curcuma dan plasebo pada masing-masing kelompok menunjukkan kelompok uji terjadi penurunan kadar ALT dibandingkan dengan pemeriksaan awal, dengan rerata  $17,67 \pm 3,89$  tetapi tidak bermakna secara statistik dengan nilai  $p = 0,092$ , sedangkan pada kelompok kontrol

terjadi peningkatan kadar ALT dengan rerata  $19,08 \pm 3,03$  dengan nilai  $p = 0,045$  yang berarti peningkatan kadar ALT bermakna secara statistik.

Pada penelitian Sanchez,*et.al.*,1997, yang melakukan evaluasi terhadap 114 pasien anak berumur 6 bulan hingga 15 tahun dengan rerata umur 4,5 tahun menunjukkan 11 (19,6%) mengalami peningkatan nilai ALT bila dibandingkan dengan sebelum pengobatan tetapi tidak ada satupun yang menunjukkan gejala hepatotoksitas. Penelitian yang dilakukan oleh Ohkawa *et.al.* 2002, terhadap 117 pasien anak yang dirawat di rumah sakit Jepang periode januari 1995 hingga November 1999, 8 pasien mengalami hepatotoksitas berat dengan nilai ALT > 5 kali nilai normal.

Tabel 3. Selisih nilai ALT selama pemberian curcuma dan plasebo pada masing- masing kelompok

Kelompok	Rerata $\pm$ SB		Nilai p	IK 95%	
	Uji n = 12	Kontrol n=12		Bawah	Atas
ALT ( IU/ L )	$2,33 \pm 4,559$	$-1,42 \pm 2,065$	0,017*	0,676	6,824

ket ; \* uji t-independent

Selisih kadar ALT sebelum dan sesudah perlakuan, pada kelompok uji didapatkan rerata  $2,33 \pm 4,559$  dan kelompok plasebo  $-1,42 \pm 2,065$ , Hal ini menunjukkan adanya penurunan kadar ALT pada kelompok uji dan adanya kenaikan kadar ALT pada kelompok kontrol. Selisih ini bermakna secara statistik dengan  $p = 0,017$  (Tabel 3 ).

Penelitian Adhvaryu *et.al.*, 2007, efek 4 obat herbal India pada OAT ( INH, rifampisin dan PZA) sebagai *induced hepatic injury* terhadap *guinea pigs*, menunjukkan bahwa penggunaan OAT meningkatkan ALT sampel dan pemakaian OAT bersamaan dengan obat herbal tidak ada efek yang

signifikan terhadap enzim hati. Penelitian yang dilakukan Kusuma A.M., 2008, didapatkan bahwa Kurkumin mempunyai aktifitas hepatoprotektif terhadap tikus westar jantan yang diinduksi dengan parasetamol dosis toksik dan dapat menurunkan kadar SGPT secara signifikan dengan  $p = 0,000$ , Menurut Akram *et.al.*, 2010, *Turmeric* mempunyai efek hepatoprotektif sama dengan *silymarin*. Beberapa studi terhadap hewan yang telah dipapar bahan yang dapat menyebabkan hepatotoksik seperti ; Carbon tetrachloride (  $CCl_4$  ), parasetamol, galactosamine, dan aspergillus aflatoxin . Efek hepatoproteksif *Turmeric* sebagian besar dihasilkan oleh efek antioksidan dari *Turmeric*.

## KESIMPULAN

1. Pemberian OAT selama 2 bulan atau lebih pada subyek tidak mengakibatkan hepatotoksitas dengan kadar ALT masih dibatas normal.
  2. Pemberian Hepatoprotektor kurkuma dalam penelitian ini bermanfaat dalam menurunkan kadar ALT dengan selisih nilai ALT yang bermakna secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol  $p < 0,05$ ,
- Disarankan untuk melakukan penelitian terhadap efektifitas kurkuma pada penderita hepatotoksik dengan dosis kurkuma yang berbeda dan sampel yang lebih besar

## TERIMAKASIH

Dr. Riza Iriani Nasution, SpA , SMF anak RSUD Arifin Achmad Propinsi Riau

## DAFTAR PUSTAKA

- Akram M.,*et.al.*, 2010, *Curcuma longa and curcumin : A Review Article*, Rom.Journal Biol-Plant Biol, Volume 55, no.2, Bucharest
- Dipiro, J.T *et al.*, 2008, *Pharmacotherapy, A Pathophysiology Approach* , 7<sup>th</sup> edition, Mc Graw Hill Medical, New York
- Fauci *et.al.*, 2008 *Harrison's PRINCIPLES of internal medicines*, 17<sup>th</sup> edition, The McGrawHills companies, United State, Amerika
- Gunawan S.G., Setiabudy R., Nafrialdi, Elysabeth , 2009, Farmakologi dan terapi edisi 5, Departemen Farmakologi dan teraeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
- Hanani E. dan Mun'in A , 2011, Fitoterapi Dasar , Dian Rakyat, Jakarta , Indonesia
- Hoskyn W, 2003, *Paediatric tuberculosis* , Best Practice , *Postgraduate medical journal*, 79: 272-278
- Itokawa H, Shi Q, Akiyama T, Morris-Natschke S.and Lee K-H, 2008, *Recent advances in the investigation of curcuminoids*, *Chinese Medicine*, **3**:11 diakses 18 september 2012 <http://www.cmjournal.org/content/3/1/1>
- Katzung B.G, Maters S.and Trevor A.J, 2010 *Basic And Clinical Pharmacology* , 10<sup>th</sup> edition , Mc Graw Hill, Lange
- Kusuma.A.M., 2008, Efek hepatoprotektif kurkumin dan beberapa analognya terhadap ketoksikan parasetamol pada tikus wistar jantan, program studi ilmu farmasi sekolah pasca sarjana, universitas gadjah mada Yogyakarta
- Ohkawa K, Hoshiguchi M, Ohno K, Kluchi C, Takahashi S, Kondo S, *et.al*, 2002, *Risk factors for antituberculous chemotherapy-induced hepatotoxicity in Japanese pediatric patients*, 72(2):220-6, *Meiji Medical University*, Tokyo, Japan
- Sanchez A, Vidal ML, Joya-Verde G, del Castillo F, de Jose MI, Garcia-Hortelano J, 1997, *Tolerance of pyrazinamide in short course chemotherapy for pulmonary tuberculosis in children*, Departement of pediatrics, Hospital infantile La Paz, Pediatric Infect Dis J, Madrid, Spain.
- Tostmann,A., Boeree M.J , Aarnoutse R.E , de Lange W.C, van der Ven A J A M and Dekhuijzen R.,2007, *Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review* , *Journal of Gastroenterology*

*and Hepatology* 23 (2008) 192–202 ,  
diakses 14 september 2012

**Saukkonen et.al, 2006 , An official ATS  
Statement: Hepatotoxicity of  
Antituberculosis Therapy, Am J Respir  
Crit Care Med Vol 174, pp 935–952,  
diakses 18 juli 2012 [www.atsjournals.org](http://www.atsjournals.org)**

World Health Organization , 2006, *The stop  
TB Strategy, Building on and  
enhancing DOTS to meet the TB-  
related Millennium Development  
Goals*, WHO

**EFEK ANTI-INFLAMASI DAN ANTI-DIARE EKSTRAK ETANOL HERBA  
MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L.) DAN DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* L. Griff)**

**Ros Sumarny, Yuliandini, Melly Rohani**

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila

Srengseng Sawah Jagakarsa, Jakarta

Email [rosaries15@yahoo.com](mailto:rosaries15@yahoo.com)

**ABSTRAK**

Tanaman obat sangat kaya dengan kandungan kimia yang bermanfaat membantu mengatasi masalah kesehatan manusia. Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) telah beredar di pasaran dalam bentuk sediaan fitofarmaka sebagai imunostimulan. Pemanfaatan daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) oleh masyarakat untuk mengatasi kondisi wasir, peluruh kencing dan pelancar haid. Proses radang (inflamasi) merupakan pencetus berbagai penyakit antara lain wasir (hemorrhoid). Penelitian ini bertujuan menelaah efek ekstrak etanol herba meniran daun ungu sebagai anti-inflamasi dan anti-diare dalam bentuk dosis tunggal dan variasi dosis kombinasi. Uji efek anti-inflamasi dilakukan dengan metode induksi udem dengan pengamatan pengurangan/hambatan pembentukan volume udem pada telapak kaki tikus yang diinduksi dengan suspensi karagenin 2 %. Pengujian efek anti-diare dilakukan dengan metode induksi diare dengan oleum ricini; data yang diamati adalah frekuensi diare dan bobot feses selama 6 jam. Kedua uji dilakukan pada 7 kelompok hewan coba (tikus jantan) yang diberikan secara oral dosis tunggal larutan ekstrak herba meniran (EHM) dosis 14,9 mg/200 g BB, ekstrak daun ungu (EDU) dosis 5,4mg/200g BB dan 3 variasi dosis kombinasi EHM dan EDU. Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek penghambatan udem (anti-inflamasi) ekstrak herba meniran dan ekstrak daun ungu sama besarnya yaitu 58%. Pada penelitian efek anti-diare diperoleh ekstrak herba meniran (14,9 mg/200 g bb) memberikan efek anti-diare tidak berbeda dengan sediaan pembanding loperamid (0,22 mg/200 g bb), sedangkan ekstrak daun ungu dosis tunggal maupun kombinasi tidak memperlihatkan efek anti-diare.

**Kata kunci:** anti-inflamasi, anti diare, herba meniran, daun ungu

**PENDAHULUAN**

Inflamasi adalah reaksi pertahanan organisme/jaringan terhadap rangsangan yang merusak dengan tujuan memperbaiki kerusakan, membatasi atau menghilangkan penyebab kerusakan. Penyebab inflamasi antara lain mikroorganisme, benda asing (protein asing) atau kerusakan jaringan. Ramuan jamu anti-reumatik yang beredar di pasaran mengandung beberapa simplisia antara lain; blumae folium, cardamomi fructus, foeniculi fructus, kaemferia rhizoma, languatis rhizoma, orthosiphon folium, piperis nigri, retrofracti fructus dan zingiberis rhizoma dengan khasiat yang sangat bervariasi seperti menghilangkan nyeri, tekanan darah tinggi, mengatasi bengkak,

bisul dan sebagainya<sup>1</sup>. Daun ungu berasal dari tanaman *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.), famili Acanthacea mengandung: tanin, alkaloid sitosterol dan glikosid digunakan untuk obat wasir, laksatif lemah diuretik ringan<sup>2</sup>. Pada pengobatan tradisional daun ungu digunakan untuk pengobatan terhadap luka, bengkak, borok, bisul, penyakit kulit, secara eksperimental ekstrak daun ungu berkhasiat menghambat pembengkakan dan menurunkan permeabilitas vaskular<sup>4</sup>.

Diare merupakan masalah gangguan kesehatan yang bersifat fisiologis maupun patologis dan penyebab tertinggi angka kesakitan di negara berkembang.

Berdasarkan pengalaman turun temurun masyarakat menggunakan tanaman obat yang mengandung tanin yang bermanfaat menciutkan lapisan permukaan usus (astringensia). Tanaman obat yang mengandung tanin yang lazim digunakan oleh masyarakat sebagai obat diare adalah daun salam, daun jatiblanda, daun sembung,

daun jambu biji, daun meniran, dan daun ungu<sup>5</sup>. Penelitian ini bertujuan menelaah efek ekstrak etanol herba meniran daun ungu sebagai anti-inflamasi dan anti diare dalam bentuk dosis tunggal dan variasi dosis kombinasi keduanya.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Daun ungu, herba meniran, larutan karagenin 2%, etanol 70%, akuades, Na CMC, NaCl 0.9 %, indometasin, oleum recini, loperamid HCl, kertas saring.

### Pembuatan ekstrak

Herba meniran dan daun ungu diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) dan telah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong.

Simplisia (herba meniran atau daun ungu) masing-masing dikeringkan, digiling dan diekstraksi dengan cairan penyari etanol 70% dengan cara maserasi dengan pengadukan dan didiamkan selama 24 jam. Kemudian disaring dan pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental herba meniran (EHM) dan ekstrak kental daun ungu (EDU).

### Metode

Pengujian aktivitas anti-inflamasi dan anti-diare dilakukan dengan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *randomized control group*. Hewan coba adalah tikus betina (*Rattus norvegicus* L.), galur Wistar; berat badan 150-200 gram dengan umur 2-3 bulan, diperoleh dari Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. Tikus dibagi atas 7 kelompok, masing-masing kelompok 5 ekor tikus. Kelompok I; kelompok kontrol, kelompok II; kontrol positif, indometasin dosis 1,8 mg/200 g BB (uji efek anti-inflamasi) atau loperamid dosis 0,22 mg/200 g BB (uji anti-diare); kelompok III; EHM, dosis 14,9 mg/200 g BB; kelompok IV; EDU, dosis 5,4 mg/200 g BB, kelompok V; dosis kombinasi-1 (DK-1): 7,5

mg EHM +2,7 mg EDU, kelompok VI; dosis kombinasi-2; DK-2; 9,9 mg EHM + 1,8 mg EDU, kelompok VII; dosis kombinasi-3: (DK-3): 5,0 mg EHM+3,6 mg EDU.

### Aktivitas Anti-inflamasi<sup>6</sup>

Dilakukan berdasarkan metode Winter dan kawan-kawan yaitu dengan mengukur volume telapak kaki tikus dengan pletismometer. Induksi udem dilakukan dengan cara penyuntikan suspensi karagenin 2% secara intraplanar<sup>4</sup>. Sediaan uji diberikan 1 jam sebelum penyuntikan larutan karagenin. Aktivitas anti-inflamasi ditunjukkan oleh kemampuan sediaan uji mengurangi udem yang terbentuk pada telapak kaki tikus. Pengukuran volume udem dilakukan selama 5 jam dengan interval waktu selang 1 jam.

**Aktivitas Anti-diare<sup>6,7</sup>.** Pada penelitian ini diare pada tikus diinduksi dengan pemberian minyak jarak (oleum ricini) 2mL/200 g BB. Sediaan uji diberikan 1 jam sebelum induksi dengan minyak jarak. Penilaian efek anti-diare berdasarkan penurunan/pengurangan yang bermakna frekuensi diare dan bobot feses kelompok uji dibandingkan kelompok kontrol selama 6 jam.

### Analisis data

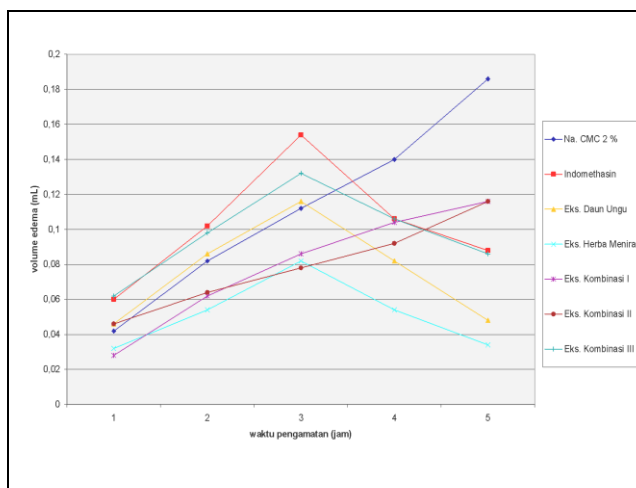
Pengurangan/reduksi udem diperoleh dari nilai selisih volume udem kelompok kontrol dengan kelompok uji/perlakuan dibagi dengan volume udem kelompok kontrol. Data pengamatan frekuensi diare dan berat feses selama 6 jam, diuji kenormalan dan homogenitas, dilanjutkan dengan uji ANAVA dan Beda Nyata Terkecil (BNT)<sup>8</sup>.

## HASIL DAN DISKUSI

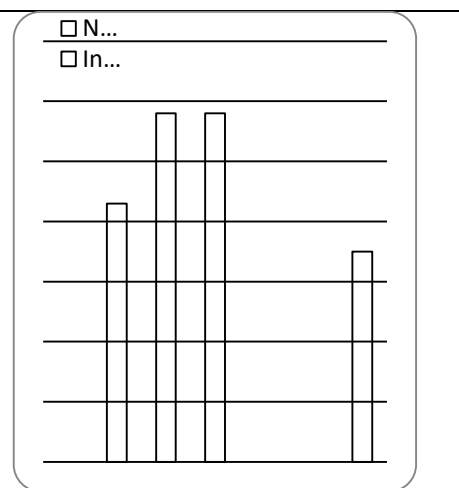
### Aktivitas anti-inflamasi

Perkembangan volume udem telapak kaki tikus yang diinduksi dengan suspensi karagenin 2% terdapat pada gambar 1. Volume maksimal udem terjadi 3 jam setelah penyuntikan suspensi karagenin 2%, dan mulai berkurang pada jam ke 4 dan ke-5. Kelompok perlakuan dengan pemberian EHM 14,9 mg/200 g BB dan EDU 5,4 mg/200 g BB, memperlihatkan volume udem yang tidak berbeda dibandingkan dengan volume udem pada jam ke-1. Pada pemberian EHM dan EDU diperoleh reduksi udem

sebesar 58%, sedangkan reduksi udem pada pemberian indometasin (kontrol positif) sebesar 43 % (gambar 2) dan kombinasi dosis-3 diperoleh reduksi udem 35 %. Nilai reduksi udem/radang ini menunjukkan kemampuan obat menekan aktivitas radang. Reduksi radang oleh natrium diklofenak dosis 12 mg/200 g BB diperoleh sebesar 52%, sedangkan reduksi udem oleh 3 ramuan jamu antirematik yang beredar dipasaran, dosis 300-600mg/200 g BB diperoleh 8 - 23%<sup>4</sup>.



Gambar 1. Volume udem kaki tikus



Gambar 2. Profil prosentase reduksi udem

Daun ungu yang diperoleh berasal dari varian *Lubrido Scanguineum Sims* adalah salah satu varian yang mempunyai efek anti-inflamasi tanaman daun ungu dan mudah didapat<sup>9</sup>.

### Aktivitas Anti-diare

Data frekuensi dan bobot feses merupakan akumulasi selama pengamatan 5 jam (tabel 1.) dan berdistribusi normal dan homogen. Dari hasil analisis BNT diperoleh parameter mula diare dan frekuensi kumulatif (fk) diare kelompok kontrol positif (loperamid dosis 0,21mg/200 g BB) tidak berbeda nyata

( $p > 0,05$ ) dengan kelompok perlakuan ekstrak herba meniran (dosis 14,9 mg/200 g BB), khusus loperamid mengurangi bobot feses. Ekstrak daun ungu bentuk tunggal maupun dosis kombinasi tidak memberikan efek anti diare. Hasil penelitian Nuratmi dkk infus daun ungu dosis 16,6 mg/100 g BB dan 166 mg/100 g BB tikus parameter anti- diare (frekuensi, konsistensi dan bobot feses) tidak berbeda dengan kelompok kontrol normal pada metode induksi diare dengan oleum ricini<sup>10</sup>.

Tabel 1. Data anti-diare

Kel	Perlakuan	Mula Diare (menit)	Fk diare (kali)	Bobot feses (gram)
I	Negatif	77,2 ± 6,1 <sup>a</sup>	8,2 ± 2,0 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,9 <sup>a</sup>
II	Loperamid	142,8 ± 29,4 <sup>b</sup>	3,5 ± 1,0 <sup>b</sup>	1,8 ± 0,7 <sup>b</sup>
III	EHM	141,5 ± 27,9 <sup>b</sup>	3,8 ± 1,6 <sup>b</sup>	2,4 ± 0,9 <sup>a</sup>
IV	EDU	76,0 ± 17,8 <sup>a</sup>	7,0 ± 1,9 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,6 <sup>a</sup>
V	DK-1	79,8 ± 35,2 <sup>a</sup>	6,7 ± 3,2 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,9 <sup>a</sup>
VI	DK-2	48,7 ± 11,8 <sup>a</sup>	5,2 ± 1,9 <sup>b</sup>	2,4 ± 0,6 <sup>a</sup>
VII	DK-3	60,5 ± 46,6 <sup>a</sup>	6,2 ± 3,1 <sup>a</sup>	3,1 ± 1,3 <sup>a</sup>

Keterangan: a dan b menunjukkan nilai berbeda nyata (p<0,05)

Trigliserida dari asam risinoleat dalam oleum ricini akan mengalami hidrolisis di dalam usus oleh lipase pankreas menjadi gliserin dan asam risinoleat (surfaktan anionik) yang bekerja mengurangi absorpsi neto cairan dan elektrolit sehingga menstimulasi peristaltik

usus yang berkhasiat sebagai laksansia<sup>5</sup>. Pada hasil penelitian Sumastuti dilaporkan bahwa sari daun ungu kadar 1,56%-50% dapat bermanfaat laksansia ringan dengan memperlancar defekasi pada obat wasir (hemorrhoid)<sup>11</sup>.

## KESIMPULAN

1. Ekstrak herba meniran (dosis 14,9 mg/200 g BB) memperlihatkan efek anti-inflamasi dan anti diare.
2. Ekstrak daun ungu (dosis 5,4 mg/200 g BB) hanya memperlihatkan efek anti-inflamasi.
3. Efek anti-inflamasi ekstrak herba meniran dan ekstrak daun ungu dosis tunggal (=58%) lebih besar dari indometasin (=43%)

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sumarny R. Evaluasi efek anti- inflamasi beberapa jamu antirematik yang beredar di pasaran. Laporan hasil penelitan, Jakarta : Fakultas Farmasi Universitas Pancasila ; 1993
2. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Materia Medika Indonesia. Jilid V. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 1988.239.
3. Wibowo H. Beberapa formulasi obat tradisional yang mengandung komponen daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Jakarta: Warta tumbuhan obat Indonesia; 2000; 6 (3). 9-12.
4. Ozaki Y, S. Setsuko,S. Soedigdo,M.Harada.Antiinflamatory effect of *Graptophyllum pictum* (L.) Griff; dalam Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1989;37(100:2799-2802.
5. Sumarny R. Evaluasi efek anti-inflamasi beberapa jamu antirematik yang beredar di pasaran. Laporan hasil penelitan, Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 1993.
6. Kelompok Kerja Ilmiah, Wattimena. Pedoman pengujian dan pengembangan Fitofarmaka: penapisan Farmakologi pengujian Fitokimia dan pengujian Klinik, Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phitomedika, Jakarta. 1993. 19-21, 43-5..
7. Vogel HG. Drug discovery and evaluation. Springer-Verlag-Berlin; 2002,875-6.

8. Usman H, Akbar RPS. Pengantar statistika. Jakarta: Bumi Aksara; 1995. 149-177
9. Widyartini DS, Herawati W, Chasanah T. Analisis filogeni *Graptophyllum pictum* (L.) Griff yang dimanfaatkan sebagai obat hemorroid ditinjau dari morfologi, anatomi dan kandungan kimianya. Biosfera. Purwokerto: Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman; 2000. 1-7.
10. Nuratmi B, Astuti YN, Wahjoedi B. Penelitian pendahuluan khasiat daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) sebagai laksansia pada tikus. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 2000;6(3):13.
11. Sumastuti R. Efek infus daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) pada usus kelinci terisolasi dalam kaitannya sebagai obat wasir. Warta Tumbuhan Obat Indonesia 2000; 6 (3): 1-3.



## UJI SENSITIVITAS ISOLAT BAKTERI DARI PASIEN LUKA BAKAR DI BANGSAL LUKA BAKAR RSUP DR. M. DJAMIL PADANG

Nazhifah, Rustini dan Deswinar Darwin  
Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji sensitivitas isolat bakteri dari sampel swab pasien luka bakar di bangsal luka bakar RSUP. DR. M. Djamil Padang. Tahap isolasi bakteri diawali dari pembiakan bakteri dalam media Thioglikolat dan ditanam dalam media Agar Darah dan Nutrient Agar. Selanjutnya dilakukan identifikasi yaitu pewarnaan Gram dan uji biokimia. Hasil identifikasi dari 4 sampel swab ditemukan 3 jenis bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae*. Uji sensitivitas dilakukan terhadap 13 jenis antibiotika yaitu ampicillin, ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, erythromycin, sulfamethoxazole + trimethoprim, cefotaxime, gentamycin, ciprofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, netilmicin, dan meropenem. Hasil menunjukkan sensitif ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, sulfamethoxazole + trimethoprim, gentamycin, ciprofloxacin, netilmicin, dan meropenem.

### PENDAHULUAN

Luka bakar merupakan masalah kesehatan yang sering ditemui di lingkungan masyarakat. Luka bakar adalah suatu bentuk kerusakan dan atau kehilangan jaringan yang disebabkan kontak dengan sumber yang memiliki suhu yang tinggi misalnya luka yang terjadi karena terbakar api langsung maupun tidak langsung seperti tersiram air panas, juga pajanan suhu tinggi dari matahari, listrik, maupun bahan kimia (Sjamsuhidajat & Wim, 2004; Moenadjat, 2009).

Akibat yang ditimbulkan oleh luka bakar yaitu kerusakan jaringan kulit yang disebabkan adanya kontak dengan sumber panas (Sjamsuhidajat & Wim, 1997). Kulit dengan adanya luka bakar akan mengalami kerusakan pada epidermis, dermis, maupun jaringan subkutan. Kerusakan yang timbul tergantung faktor penyebab dan lamanya kulit kontak dengan faktor penyebab. Lama kontak jaringan dengan sumber panas menentukan luas dan kedalaman kerusakan jaringan. Semakin lama waktu kontak, semakin luas dan dalam kerusakan jaringan yang terjadi (Sjamsuhidajat & Wim, 1997).

Trauma termal pada kulit dan jaringan dibawahnya menyebabkan menu-

runnya fungsi barier kulit. Dengan menurunnya sistem imunitas tubuh akibat luka bakar baik lokal maupun sistemik merupakan faktor yang sangat penting pada proses timbulnya infeksi (Moenadjat, 2009). Infeksi ringan dan noninvasif (tidak dalam) ditandai dengan keropeng yang mudah terlepas dengan nanah yang banyak. Infeksi invasif ditandai dengan keropeng yang kering dengan perubahan jaringan di tepi keropeng yang mula-mula sehat menjadi nekrotik, akibat infeksi kuman menimbulkan peradangan pembuluh darah pada pembuluh kapiler di jaringan yang terbakar dan menimbulkan trombosis (Naqvi, *et al*, 2011).

Akibat trauma termal, lapisan kulit dan jaringan dibawahnya mengalami denaturasi yang disebut eskar, yang merupakan lingkungan kaya akan protein dan merupakan media yang sangat baik untuk tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme, yaitu mikroorganisme yang hidup di folikel rambut dan kelenjar keringat, mikroorganisme ini akan membentuk koloni-koloni pada luka bakar dangkal, konsentrasinya dapat mencapai  $10^4$  sampai  $10^8$  CFU/g jaringan pada hari kelima. Jenis mikroorganisme

yang berkoloni sangat beragam dan tergantung penatalaksanaan awal pada luka. Streptokokus atau Stafilokokus merupakan jenis mikroorganisme yang paling sering dijumpai pada penderita yang tidak memperoleh pengobatan awal dengan antibiotika topikal (Ekrami & Kalantar, 2007; Rajput. *et al.*, 2008; Branski, *et al.*, 2009; Moenadjat, 2009).

Mikroorganisme juga terdapat pada permukaan kulit pasien melalui kontak dengan permukaan yang terkontaminasi dengan lingkungan rumah sakit, air, udara dan dari petugas kesehatan (Church. *et al.*, 2006). Di lingkungan perawatan rumah sakit, koloni yang tersering dijumpai adalah mikroorganisme gram negatif dengan fokus utama hingga saat ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* (Rajput. *et al.*, 2008; Japoni, *et al.*, 2009; Moenadjat, 2009).

Pengobatan luka bakar biasanya dengan pemberian antibiotika baik topikal maupun sistemik. Pemberian antibiotika topikal dan sistemik pada luka bakar ditujukan untuk mencegah dan mengatasi infeksi yang timbul pada luka bakar. Pemilihan jenis antibiotika dilakukan berdasarkan hasil kultur mikroorganisme penyebab infeksi dan memiliki sensitivitas terhadap mikroorganisme penyebab. Masalah utama pada faktor mikroorganisme ini adalah berkembangnya berbagai jenis mikroorganisme yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotika (Moenadjat, 2009; Naqvi, *et al.*, 2011).

Beberapa jenis obat yang sering digunakan untuk tujuan topikal yaitu Silver nitrat 0,5 %, Mafenide acetate 10 %, Silver sulfadiazine 1 %. Antibiotika yang sering digunakan untuk tujuan sistemik yaitu antibiotika golongan sefalosporin (Church. *et al.*, 2006; Moenadjat, 2009).

Antibiotika pilihan untuk luka bakar menurut standar operasional prosedur perawatan luka bakar SMF Bedah RSUP. DR. M. Djamil yaitu sefalosporin generasi pertama dan generasi ketiga. Dari hasil observasi di rumah sakit DR. M. Djamil Padang dan diskusi dengan perawat bahwa pasien yang baru datang diberikan antibiotika trixon atau ceftriaxon, apabila belum ada perubahan dilakukan kultur dan diganti antibiotika yang digunakan akan tetapi masih banyak pasien yang tidak sembuh dengan penggunaan antibiotika tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian berhubungan dengan hal tersebut supaya diketahui jenis mikroorganisme yang terdapat pada luka bakar, dan sensitivitas terhadap antibiotika.

Berdasarkan uraian diatas, maka dicoba untuk menguji sensitivitas isolat bakteri dari pasien luka bakar di bangsal luka bakar RSUP DR. M. Djamil Padang, dan pada penelitian ini menentukan apakah jenis bakteri yang terdapat pada luka bakar sebagai penyebab infeksi dan apakah bakteri penyebab infeksi tersebut masih sensitif terhadap antibiotika yang biasa digunakan di RSUP DR. M. Djamil Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri penyebab infeksi pada pasien yang dirawat di bangsal luka bakar dan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap beberapa jenis antibiotika yang digunakan sehingga pemilihan antibiotika akan lebih tepat. Disamping itu, melalui penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan manfaat yaitu sebagai dasar perubahan standar terapi antibiotika pada pasien luka bakar dengan diketahuinya jenis bakteri yang menginfeksi luka bakar dan mengetahui antibiotika yang sensitif terhadap bakteri yang menginfeksi luka bakar dan memberikan tambahan informasi kepada pihak rumah sakit.

## METODE PENELITIAN

### Periapan Alat dan Bahan

#### Alat

vial steril, kapas lidi steril, handscoon, masker, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri (Petrico®), beaker glass (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), erlenmeyer (Pyrex®), batang pengaduk (Pyrex®), pipet mikro (Tranferpette®), jarum ose, kertas perkamen, lampu spiritus, timbangan analitik, pinset, spatel, mikroskop, penggaris, inkubator (Gallenkamp®), autoklaf (All American®), lemari aseptis, laminar air flow (Esco®), lemari pendingin, hot plate (IEC®), dan vortex.

#### Bahan

Swab / apusan pada sekret luka dari pasien luka bakar di bangsal luka bakar RSUP. DR. M. Djamil Padang, media Thioglycollate Agar (BD®), media Blood Agar (BD®), media Nutrient Agar (BD®), media Mueller Hilton (BD®), media HIB (BD®), media Triple Sugar Iron Agar (BD®), media Methyl-Red (BD®), media Voges-Proskauer (BD®), media Sulfite Indole Motility (BD®), media Simmon's Citrate (BD®), media Urea Christensen Agar (BD®), disk antibiotik (BD®), standar McFarland 0.5, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %, HCl 10 %, alkohol 70%, alkohol 96 %, NaCl fisiologis, aquadest, larutan kristal violet, larutan lugol, dan larutan safranin.

### Prosedur Penelitian

#### Sterilisasi Alat (Syahrurachman et al, 1994)

Alat-alat yang akan disterilkan terlebih dahulu dicuci bersih dan didekontaminasi, cawan petri dibungkus dengan kertas perkamen, untuk alat-alat gelas ( tabung reaksi, gelas ukur, Erlenmeyer ) ditutup mulutnya dengan kapas steril yang dibalut dengan kain kasa steril lalu dibungkus dengan kertas perkamen, kemudian disterilkan semuanya dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup> C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset, jarum ose, dan kaca objek disterilkan dengan cara flambir. Laminar air flow disterilkan dengan menyalakan lampu UV selama

5 menit. Lemari aseptis dibersihkan dari debu lalu disemprot dengan alkohol 70%, dibiarkan selama 15 menit.

### Penyiapan dan Pembuatan Media (Anonim, 2004; Duncan, 2005; Hardjoeno, 2007)

#### 1. Media Fluid Thioglycollate (FT)

29 g serbuk Thioglycollate Agar dilarutkan dalam 1 L aquadest dalam erlenmeyer, dipanaskan sampai homogen, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 15 lbs selama 15 menit. Setelah steril dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 mL.

#### 2. Media Blood Agar (BA)

40 g serbuk Blood Agar dilarutkan dalam 1 L aquadest dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup> C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Setelah disterilkan ditambahkan darah domba segar sebanyak 50 mL, dicampur hingga rata, lalu dituangkan kedalam cawan petri sebanyak 15 mL.

#### 3. Media Nutrient Agar (NA)

23 g serbuk Nutrient Agar dilarutkan dalam 1 L aquadest. Lalu dipanaskan sampai terbentuk massa homogen, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit. Setelah disterilkan, lalu dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL.

#### 4. Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

65 g serbuk media Triple Sugar Iron Agar dilarutkan dalam 1 L aquadest, lalu dipanaskan hingga mendidih, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada 121<sup>0</sup> C tekanan 15 lbs, dibiarkan membeku pada posisi miring.

#### 5. Media Metil-Red Voges-Proskauer (MR/-VP)

17 g serbuk media Metil-Red Voges-Proskauer dilarutkan dalam 1 L aquadest, lalu dipanaskan hingga mendidih, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 15 lbs.

#### **6. Media Sulfite Indol Motility (SIM)**

30 g serbuk media SIM dilarutkan dalam 1 L aquadest, lalu dipanaskan hingga melarut, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 15 lbs.

#### **7. Media Urea Agar (UA)**

24,02 g serbuk media Urea Christensen Agar dilarutkan dalam 1 L aquadest, lalu dipanaskan hingga mendidih, setelah itu disterilkan selama 20 menit pada  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 15 lbs. Pada tempat terpisah, dilarutkan 400 g Urea dalam 1 L aquadest, disterilkan dengan penyaringan, setelah itu secara aseptik dicampurkan 50 mL larutan urea ke dalam 95 mL larutan urea agar, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL dan dibiarkan membeku dalam posisi miring.

#### **8. Media Simmons Citrate Agar (SC)**

24,2 g serbuk Simmons Citrate dilarutkan dalam 1 L aquadest, lalu dipanaskan hingga mendidih, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 mL, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 15 lbs.

#### **9. Mueller Hinton Agar (MHA)**

38 g serbuk Mueller Hinton Agar dilarutkan dalam 1 L aquadest, dipanaskan sampai homogen, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 15 lbs selama 15 menit, setelah steril dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL.

**Pengambilan Sampel (Michael, 1999; Anonim, 2004)**

Sampel yang diambil berupa swab / apusan dari sekret luka empat orang pasien luka bakar pada bangsal luka bakar RSUP DR. M. Djamil Padang. Luka bakar pasien dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70% dan didiamkan  $\pm 10$  menit, lalu luka bakar dipencet perlahan-lahan agar cairan dibawah kulit didapatkan dengan baik, lalu cairan diambil dengan cara apusan menggunakan kapas lidi steril sebanyak dua kali pengambilan. Apusan pertama difiksasi ke slide untuk pewarnaan Gram dan apusan kedua dimasukkan ke dalam empat media thioglikolat, ditutup rapat dan uji dilanjutkan di laboratorium mikrobiologi.

#### **Isolasi Bakteri (Duncan, 2005; Hardjoeno, 2007)**

Sampel swab dari luka bakar diambil dengan menggunakan kapas lidi steril kemudian dimasukkan ke dalam 4 media thioglikolat, lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Selanjutnya ditanam pada cawan petri yang berisi media Agar Darah dan media Nutrient Agar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Setelah itu dilakukan identifikasi bakteri.

**Identifikasi Bakteri (Bibiana, 1994; MacFaddin, 2000; Duncan, 2005; Hardjoeno, 2007)**

#### **1. Morfologi Bakteri**

Bentuk koloni berbeda-beda untuk setiap spesies dari bakteri dan bentuk itu merupakan ciri khas bagi suatu spesies tertentu. Besar kecilnya koloni, mengkilat atau tidaknya, halus atau kasarnya permukaan dan warna dari koloni merupakan sifat yang diperlukan untuk identifikasi.

#### **2. Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram digunakan untuk menentukan jenis bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram diuji dengan cara, kaca objek dibersihkan dengan alkohol sehingga bebas dari lemak, kemudian difiksasi di atas lampu spiritus sampai kering, lalu diberi satu tetes NaCl fisiologis. Bakteri dari media diambil dengan jarum ose,

diletakkan pada tetesan NaCl fisiologis, kemudian dicampur hingga merata. Dibiarkan mengering di udara sebentar dan difiksasi di atas api. Kemudian ditetesi 2-3 tetes larutan Kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, ditetesi larutan lugol satu tetes dan dibiarkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan, preparat dibilas dengan alkohol 96% selama 30 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Terakhir ditetesi dengan larutan safranin dan dibiarkan selama 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Setelah itu preparat ini diamati di bawah mikroskop. Warna ungu untuk bakteri gram positif dan warna merah untuk bakteri gram negatif.

### **3.Uji Katalase**

Uji katalase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase sehingga dapat dibedakan antara bakteri aerob dan anaerob. Uji katalase dilakukan dengan cara, di atas kaca objek ditetesi satu tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, kemudian ditambahkan koloni bakteri dan langsung diamati terjadinya penguraian hidrogen peroksida. Hasil dinyatakan positif apabila menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara. Dan hasil dinyatakan negatif apabila tidak ada gelembung udara.

### **4.Uji Koagulase**

Uji koagulase digunakan untuk melihat kemampuan bakteri yang menghasilkan enzim yang dapat menggumpalkan fibrin. Uji koagulase dilakukan dengan cara, dari media agar darah diinokulasikan 1-3 koloni bakteri ke dalam media HIB. Kemudian di-encerkan 1 mL plasma dengan 4 mL aqu-adest, dipipet 0,5 mL, dimasukkan ke dalam biakan HIB dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian, diamati pembentukan gumpalan pada medium, adanya gumpalan seperti awan menunjukkan hasil positif.

### **5.Uji Optochin**

Uji optochin dilakukan dengan cara 1 ose suspensi bakteri ditanam pada media Muller Hinton kemudian diletakkan disk Optochin diatas media Muller Hinton, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya daerah bening disekitar disk menunjukkan hasil positif.

### **6.Uji Novobiocin**

Uji novobiocin dilakukan dengan cara 1 ose suspensi bakteri ditanam pada media Muller Hinton kemudian diletakkan disk Novobiocin diatas media Muller Hinton, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya daerah bening disekitar disk menunjukkan hasil positif.

### **7. Uji Fermentasi Glukosa pada medium TSIA**

Uji fermentasi glukosa pada medium TSIA digunakan untuk membedakan organisme enterik berdasarkan kemampuannya memfermentasi glukosa, sukrosa dan laktosa pada medium. Uji reaksi TSI Agar dilakukan dengan cara, koloni yang diuji dipindahkan ke agar miring TSIA dengan cara menggores bagian miringnya dan menusuk bagian tegaknya. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Diamati perubahan-perubahan sebagai berikut:

Pada bagian tegak, jika bakteri dapat memfermentasi glukosa, warna media berubah dari ungu menjadi kuning. Tidak memfermentasi sukrosa, media tetap ungu. Dapat membentuk gas H<sub>2</sub>S, warna media berubah dari ungu menjadi hitam, karena bakteri mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H<sub>2</sub>S, dan H<sub>2</sub>S akan bereaksi dengan Fe<sup>+2</sup> yang terdapat pada media yang menghasilkan endapan hitam.

Pada bagian miring, jika bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa, warna media berubah jadi kuning, tidak dapat memfermentasi laktosa atau sukrosa, warna media tetap merah atau tidak berubah.

### 8. Uji Metil Red- Voges Proskauer (MR-VP)

Uji Metil Red digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Penentuan uji metil red dilakukan dengan cara, diinokulasi 1 ose biakan ke dalam media MR-VP. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu ditetaskan 2 tetes reagen metil red, apabila terbentuk cincin merah menunjukkan reaksi positif.

Sedangkan uji Voges Proskauer digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri tersebut menghasilkan produk akhir yang netral (asetilmetilkarbinol) dari fermentasi glukosa. Penentuan uji Voges Proskauer dilakukan dengan cara, diinokulasi 1 ose biakan ke dalam media MR-VP. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu ditetaskan 2 tetes reagen barit A ( $\alpha$ -naftol) dan barit B (Kalium Hidroksida), apabila terbentuk cincin merah menunjukkan reaksi positif.

### 9. Uji Hidrolisis Tryptophan dan Motilitas Bakteri pada Medium SIM

Uji hidrolisis tryptophan digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghidrolisis tryptophan menjadi indol. Uji ini dilakukan dengan cara, diinokulasikan 1 ose bakteri pada medium SIM kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu ditetaskan reagen Ko-vacks (terdiri dari dimetil amino-benzaldehid, n-amyl alkohol & HClp), jika terbentuk cincin merah berarti indol positif dan jika terbentuk cincin kuning berarti indol negatif. Terbentuknya cincin merah menandakan positif karena bakteri membentuk indol dari tryptophan sebagai sumber karbon.

Uji motilitas digunakan untuk melihat pergerakan dari bakteri. Uji motilitas dilakukan dengan cara, satu ose bakteri ditanam secara tegak lurus di tengah-tengah Medium SIM dengan cara ditusukkan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bila timbul kekeruhan seperti kabut menandakan bakteri bergerak.

### 10. Uji Penggunaan Sitrat pada Medium SC

Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Uji sitrat dilakukan dengan cara, diambil 1 ose bakteri dan diinokulasikan ke dalam medium Simon Citrate Agar, diinkubasi pada suhu 35°C selama 48-96 jam, warna biru menunjukkan reaksi positif, warna hijau menunjukkan reaksi negatif.

### 11. Uji Hidrolisis Urea

Uji hidrolisis urea dilakukan untuk melihat bakteri yang mampu menghasilkan enzim urease. Uji hidrolisis urea dilakukan dengan cara, digoreskan 1 ose biakan pada permukaan Urea Agar miring, setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Timbulnya warna merah muda berarti reaksi positif dan negatif warna tidak berubah.

### Uji Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik (Bibiana, 1994)

#### a. Penyiapan Disk Antibiotik

Disk antibiotik yang digunakan dengan konsentrasi yang telah ditetapkan sebagai berikut.

Tabel 1. Disk antibiotik yang digunakan

No	Antibiotik	Konsentrasi (µg)	Produksi
1	Ampicillin	10 µg	BD
2	Ampicillin+Sulbactam (10 µg) + (10 µg)	20 µg	BD
3	Chloramphenicol	30 µg	BD
4	Erythromycin	15 µg	BD
5	Sulfametoxazol+Trimethoprim (23,75 µg) + (1,25 µg)	25 µg	BD
6	Cefotaxime	30 µg	BD
7	Gentamycin	10 µg	BD
8	Ciprofloxacin	5 µg	BD
9	Ceftriaxone	30 µg	BD
10	Ceftazidime	30 µg	BD
11	Netilmicin	30 µg	BD
12	Cefoperazone	75 µg	BD
13	Meropenem	10 µg	BD

## b. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Sebanyak 1–2 ose koloni bakteri uji disuspensikan dalam NaCl fisiologis dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan dengan vortex. Kemudian kekeruhan suspensi bakteri tersebut dibandingkan dengan standar McFarland 0.5.

## c. Uji Resistensi Bakteri terhadap Antibiotika dengan Menggunakan Metode Difusi Agar

Suspensi bakteri diambil dengan kapas lidi steril dan ditanam pada media

Muller Hinton Agar dengan cara mengoleskan secara merata pada permukaan media. Disk antibiotik diletakkan hati-hati di atas biakan bakteri tersebut dan ditekan perlahan dengan pinset steril supaya benar-benar kontak dengan bakteri yang terdapat pada media. Jarak disk dengan tepi cawan petri 15 mm dan jarak antar disk 24 mm. Biakan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Karakterisasi dengan mengukur dan membandingkan diameter daerah hambatnya terhadap tabel standar. Sensitif (S) dan resisten (R) terhadap antibiotik disimpulkan berdasarkan diameter daerah bening disekitar disk antibiotik.

## HASIL DAN DISKUSI

Dari isolasi sampel swab luka bakar yang diambil dari 4 orang pasien yang dirawat di bangsal luka bakar RSUP. DR. M. Djamil Padang yang diinokulasikan pada Blood Agar dan Nutrient Agar memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri. Hasil pengamatan secara makroskopis pada media Blood Agar yaitu koloni cembung, bulat, putih kekuningan, pinggir rata, ukuran sedang,  $\beta$  hemolisa, abu-abu, mukoid, smooth,  $\lambda$  hemolisa dan pada Nutrient Agar yaitu koloni agak cembung, putih kekuningan, bulat, pinggir rata, ukuran sedang, putih keabuan, mukoid, smooth, diduga bakteri *S. aureus*, *K. ozaenae*, *K. Pneumonia*. Hasil pewarnaan Gram dari media Blood Agar dan Nutrient Agar terdapat 1 bakteri Gram positif dan terdapat 3 bakteri Gram negatif.

Dari identifikasi sampel yang dilakukan, diketahui bahwa terdapat tiga jenis bakteri yang ditemukan, yaitu 1 isolat *S. aureus*, 1 isolat *K. ozaenae*, dan 2 isolat *K. pneumonia*. Hasil uji resistensi masing-masing bakteri terhadap 13 jenis antibiotika uji ampicillin, ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, erithromycin, sulfamethoxazole +

trimethoprim, cefotaxime, gentamycin, ciprofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, netilmicin, dan meropenem menunjukkan bahwa: *S. aureus* resisten terhadap ampi-cillin, eritromycin. Intermediet terhadap ce-fotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefo-perazone. *K. ozaenae* resisten terhadap ampicillin, ampicillin + sulbactam, chlo-rampenicol, eritromycin, sulfamethoxazole + trimethoprim, cefotaxime, gentamycin, ciprofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone. Intermediet terhadap netilmicin dan meropenem. *K. pneumonia* I resisten terhadap ampicillin, ampicillin + sulbactam, eritromycin, sulfamethoxazole + trimetoprim, cefotaxime, ciprofloxacin, cefta-zidime, ceftriaxone, cefoperazone, netil-micin. Intermediet terhadap gentamycin dan netilmicin. *K. pneumonia* II resisten terhadap ampicillin, ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, erithromycin, sulfame-thoxazole + trimethoprim, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, meropenem. Intermediet terhadap gentamycin, ciprofloxacin, netilmicin.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri yang terdapat pada luka bakar dari 4 orang pasien yaitu *S. aureus*, *K. ozaenae*, *K. pneumonia* I dan *K. pneumonia* II.
  2. Uji resistensi bakteri terhadap 13 jenis antibiotika (ampicillin, ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, erithromycin, sulfa-methoxazole + trimethoprim, cefotaxime, gentamycin, ciprofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, netilmicin, dan meropenem):  
*S. aureus* resisten terhadap ampicillin, eritromycin.  
*K. ozaenae* resisten terhadap ampicillin, ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, eritromycin, sulfamethoxazole + trimethoprim, cefotaxime, gentamycin, ciprofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, meropenem.  
*K. pneumonia* I resisten terhadap ampicillin, ampicillin + sulbactam, eritromycin, sulfamethoxazole + trimethoprim, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, netilmicin.  
*K. pneumonia* II resisten terhadap ampicillin, ampicillin + sulbactam, chloramphenicol, eritromycin, sulfamethoxazole + trimethoprim, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone, meropenem.
- Dari hasil yang didapatkan *K. ozaenae* dan *K. pneumonia* I yang paling banyak resisten terhadap antibiotika yang digunakan.
3. Meropenem memiliki angka sensitifitas yang paling tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abramowicz, M. 2005. *Handbook of Antimicrobial Therapy* (17<sup>th</sup> Ed). New York: The Medical Letter, Inc.
- Anonim. 2004. *Standard Operating Procedure Pemeriksaan Mikrobiologi Klinik*. Jakarta: Laboratorium Mikrobiologi Klinik FK UI.
- Bibiana, W. L. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Branski, L. K., Al-Mousawi, A., Rivero, H., Jeschke, M. G., Sanford, A. P., & Herndon, D. N. 2009. Emerging Infections in Burns. *Surgical Infections*, Volume 10, Number 5:389-397.
- Brown, A. 2001. *Benson: Microbiological Applications Lab Manual* (8<sup>th</sup> Ed). New York: The McGraw-Hill Companies.
- Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., & Lindsay, R. 2006. Burn Wound Infections. *Clinical Microbiology Reviews*: American Society for Microbiology. DOI: 10.1128/CMR.19.2.403-434.
- Duncan, F. 2005. *MCB 1000L Applied Microbiology Laboratory Manual* (4<sup>th</sup> Ed). New York: The McGraw-Hill Companies.
- Dwidjoseputro. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Solo: Djambatan.
- Ekrami, A & Kalantar, E. 2007. Bacterial Infections in Burn Patients at a Burn Hospital in Iran. *Indian J Med Res* 126, pp 541-544.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., & Lilburn, T.G. 2004. *Taxonomic outline of the prokaryotes: Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (2<sup>nd</sup> Ed). New York: Springer New York, Inc.
- Gunawan, S., Setiabudy, R., Nafrialdi. 2009. *Farmakologi dan Terapi* (Ed.5). Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK-UI.
- Greg, D. 2011. *Staphylococcus aureus*, Diakses 14 agustus 2012 dari <http://www.healthhype.com/staphylococcus-aureus.html>.



- Hardjoeno, H. 2007. *Kumpulan Penyakit Infeksi dan Tes Kultur Sensitifitas Kuman serta Upaya Pengendaliannya* Makassar: Bagian Patologi Klinik FK-UNHAS.
- Jawetz, E., Melnick, J., & Adelberg, E. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran* (Ed 1). Penerjemah: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- Japoni, A., Farshad, S. & Alborzi, A. 2009. *Pseudomonas aeruginosa: Burn Infection, Treatment and Antibacterial Resistance . Iranian Red Crescent Medical Journal*, 11(3):244-253.
- MacFaddin, J. F. 2000. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. Maryland: Lippincott Williams & Wilkins.
- Michael, J. M . 1999. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*, 2<sup>nd</sup> Ed. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Moenadjat, Y. 2009. *Luka Bakar Masalah dan Tatalaksana*. Jakarta: Fakultas kedokteran Universitas Indonesia.
- Moenadjat, Y. 2001. *Luka Bakar: Pengetahuan Klinis Praktis*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J., Pfaller, M., & Tenover, F. 2007 *Manual of Clinical Microbiology*. (9<sup>th</sup> Ed). Washington DC: ASM Press.
- Naqvi, Z. A., Kharal, S. A., & Aziz, Q. 2011. Burn Patients; Effectiveness of  $\beta$  lactam Antimicrobial Drugs Against Gram Negative Bacteria. *Professional Med J*, 18 (2):300-350.
- Pelczar, M. J., and E. C. S. Chan. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid II, diterjemahkan oleh Ratna. S. H. Jakarta: UI-Press.
- Rajput, A., Singh, K. P., Kumar, V., Sexena, R. & Singh, R. K. 2008. Antibacterial Resistance Pattern of Aerobic Bacteria Isolates from Burn Patients in Tertiary Care Hospital. *Biomedical Research*, 19 (1): 1-4
- Rokas, B., Algimantas, T., Rytis, R., & Mindagus, K. 2004. Analysis of Burn Patient and the Isolated Pathogens. *Lithuanian Surgery*, 2(3), 190-193.
- Schlegel, H. G and Schmidt, K 1994. *Mikrobiologi Umum*. Edisi ke-6, diterjemahkan oleh Tedjo Baskoro. Yogyakarta: UGM Press.
- Sjamsuhidajat, R. & Wim, D. J. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah* (Ed 2). Jakarta: EGC.
- Sjamsuhidajat, R. & Wim, D. J. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah* (Ed 1). Jakarta: EGC.
- Syahrurachman, A., Chatim, A. & Sardjito, R. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Tenover, F. C. 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*, Vol 119 ( 6A) S3-S10.
- Volk, A.W and Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar*, (5<sup>th</sup> Ed), diterjemahkan oleh Soenarto, Adi Soemarto, Jakarta :Penerbit Airlangga.
- Wattimena, J. R. 2000. *Farmakologi dan Terapi Antibiotik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wahyutomo, R. 2009. Resistensi Antibiotika, diakses 28 Juli 2012 dari <http://www.drridhowahyutomo.blogspot.com/2009/08/resistensi-antibiotika.html>.**
- Wedro, B. C. 2008. First Aid to Burns, diakses 20 April 2012 dari <http://www.medicinenet.com>.**

**AKTIVITAS PROTEKSI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SURIAN  
(*Toona sureni* BL Merr) TERHADAP DISFUNGSI SEL ENDOTEL TIKUS  
HIPERKOLESTEROLEMIA**

**Suhatri, Roslinda R, Dachriyanus, khairunisa dan Delva Y**  
Fakultas Farmasi UNAND

**ABSTRAK**

Aterosklerosis merupakan masalah yang semakin meningkat pada saat ini, karena memiliki resiko yang tinggi terjadi penyakit jantung koroner (PJK). Aterosklerosis terjadi biasanya bila terjadi disfungsi sel endotel. Salah satu bahan alam yang potensial untuk mencegah disfungsi sel endotel adalah tanaman surian (*Toona sureni* BL Merr). Fraksinasi etil asetat daun surian mengandung senyawa metil galat. Metil galat termasuk senyawa polifenol alami yang memiliki antioksidan. Penelitian ini mempunyai tujuan untuk menganalisa efek fraksi etil asetat daun surian sebagai proteksi disfungsi sel endotel pada tikus hiperkolesterolemia yang diinduksi dengan MLT (Makanan Lemak Tinggi) dan PTU (Propiltiourasil). Penelitian ini bersifat eksperimental murni penelitian bersifat *post test only control group design*. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Adanya efek proteksi terhadap sel endotel parameter yang diamati adalah kadar EDRF (NO), kadar VCAM-1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun (*Toona suren* BL Merr) dapat memproteksi disfungsi sel endotel pada keadaan hiperkolesterolemia karena dapat meningkatkan kadar NO serum, dan menurunkan kadar CVAM, jika dibandingkan dengan hewan yang diberikan MLT dan PTU ( $P < 0,05$ ).

**Kata kunci:** fraksi etil, daun surian NO/EDRF, VCAM-1 dan Hiperkolesterol

**PENDAHULUAN**

Patogenesis aterosklerosis dimulai dari meningkatnya LDL (*Low Density Lipoprotein*). Hiperkolesterolemia memudahkan LDL menyusup ke dalam intima dan akan mengalami oksidasi tahap pertama sehingga terbentuk gugus hidroksil pada sel endotel dan otot polos pembuluh darah. Radikal hidroksil ini akan bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh (*polyunsaturated Fatty Acid/PUPA*) yang merupakan struktur dari membran sel termasuk sel endotel sehingga dapat menimbulkan reaksi peroksidasi lipid yang akan menghasilkan peroksidasi peroksid. *Low density lipoprotein* teroksidasi dan lipid peroksid yang terbentuk merusak sel endotel pembuluh darah dan terjadi disfungsi sel endotel (Lawrence, 2006; Weinberg, 2004; Robert, 2008; Robert, 2009).

Disfungsi sel endotel akan menurunkan daya vasodilatasi pembuluh

darah, karena terjadi penurunan produksi dan bioaktivitas faktor vasodilatasi lokal, khususnya nitrogen mono oksida (NO) atau nama lainnya *Endothelium Derivate Relaxing Factor* (EDRF) (Lawrence, 2004; Ghasemi *et al.*, 2007; Simionescu, 2007), Disfungsi sel endotel akan memicu terbentuknya molekul *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), *intercellular cell adhesion molecule-1* (ICAM-1) (Cybulsky *et al.*, 2001; Xi, 2007; Yamamoto *et al.*, 2008; Rohatgi *et al.*, 2009). Molekul ini dapat melekatkan dan menarik monosit dan menembus lapisan endotel dan masuk ke dalam lapisan intima (Yamamoto *et al.*, 2008). LDL-teroksidasi akan difagosit oleh makrofag. Semakin banyak LDL-teroksidasi semakin banyak difagosit oleh makrofag dan membentuk sel busa (Nakashima *et al.*, 2007). LDL teroksidasi juga merangsang sel-sel otot polos pembuluh darah dan kemudian akan

berproliferasi sehingga jumlahnya semakin banyak dan mempertebal dinding pembuluh darah dan membentuk atheroma (Hackam., 2006).

Senyawa antioksidan alami terdiri dari senyawa fenolik, polifenol yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, turunan asam galat, kumarin, tokoferol, dan asam organik polifungsional (Pratt, 1992). Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katesin, dan kalkon. Senyawa polifenolik ini adalah multifungsional dan dapat bereaksi sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, (d) Peredam terbentuknya singlet oksigen (Aqil *et al.*, 2006).

Tanaman surian mengandung zat pengelat (Sastroamidjoyo, 2001). Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa daun surian mengandung senyawa flavonoid kuersetin (Ifmaily 1996), terpenoid/tetranortriterpenoid yaitu surenon, surenin (Kraus, 1997), steroid, karotenoid, dan metil galat (Ekaprasada, 2010).

Fraksinasi etil asetat daun surian ini terbukti memiliki efek antioksidan dengan metode pengikatan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Romi, 2009).

Berdasarkan uraian diatas dan efek samping yang disebabkan obat penurun kolesterol, dan banyak fakta menyatakan pencegahan tentu jauh lebih baik dari pengobatan, dengan adanya aktivitas antioksidan polifenol yang terdapat dalam fraksi etilasetat daun surian (*Toona surenin* BL Merr), bersamaan dengan kecenderungan global untuk kembali ke alam dan dalam rangka menggali potensi tumbuhan obat Indonesia khususnya tanaman surian, perlu dilakukan penelitian terhadap fraksi etil asetat ini, dengan menguji efek terhadap fungsi sel endotel tikus hiperkolesterolemia.

Pada penelitian ini dibuktikan adanya efek proteksi fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* BL Merr) terhadap disfungsi sel endotel pembuluh darah dengan mengukur kadar NO/EDRF, kadar VCAM yang dihasilkan oleh sel endotel secara *in vivo*.

## METODE PENELITIAN

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Tikus putih Wistar dengan bobot badan 200-250 gram. Umur sekitar 3 bulan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Surian (*Toona sureni* BL.Merr), Etanol 96 %, Serbuk Mg, HCL pekat, N- Heksana, Etil asetat, Metanol, Kloroform, Kloroform amoniak, NaCMC, air suling(aquadest), Silika gel PF 60 ukuran 40-63 nm, Makanan Standar Tikus (511), MLT, *Propylthiourasil*, dan Kit Assay *Designs<sup>TM</sup> Total Nitric Oxide Assay. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* Spektrofotometer *BIO-RAD*, kit VCAM RayBio® Mouse ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol maserasi, kapas, *rotary evaporator*, timbangan analitis, timbangan hewan, mortir, stamper, jarum oral dan alat

suntik, tabung sentrifuse dan rak tabung sentrifuse, , kandang hewan, rak tabung, sentrifuse, botol chamber, alat gelas yang umum digunakan pada lab kimia, *cutter*, Kromatografi Kolom besar dan kecil, Plat KLT, Lampu UV 254 nm, Spektrofotometer Ultraviolet (UV), Fisher-jhon Melting Point Apparatus, tempat makan dan minum tikus, Lemari pendingin dengan temperatur 4 C- 20 C., serta alat *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* Spektrofotometer *BIO-RAD*. pipet tetes, tabung reaksi.

### Pembuatan Fraksi Etil Asetat Daun Surian

Pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya yaitu pelarut non polar digunakan heksan semipolar etil asetat dan air. Selanjutnya fraksi etil asetat yang diuji pada tikus ditentukan kadar NO dan CVAM-1 serumnya.

**Perlakuan terhadap Hewan Percobaan.**

Pengelompokan tikus berdasarkan perlakuan yang diberikan seperti tabel dibawah ini

Kelompok	Perlakuan
1	NaCMC (kontrol negatif)
2	MLT + PTU (kontrol positif)
3	MLT + PTU + Fraksi etil asetat Daun Surian dosis 25 mg/kgBB
4	MLT + PTU + Fraksi etil asetat Daun Surian dosis 50 mg/kgBB
5	MLT + PTU + Fraksi etil asetat Daun Surian dosis 100 mg/kgBB
6	MLT + PTU + Vitamin C dosis 100 mg/kgBB

Setelah 60 hari dari perlakuan, semua hewan percobaan diambil darahnya untuk diperiksa kadar NO dan VCAM-1 serum.

**Penyiapan Serum**

Pengambilan serum dengan cara mengambil darah melalui pembuluh darah leher. Darah diambil dengan cara memotong pembuluh darah pada leher tikus dan ditampung dengan tabung sentrifugal dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian dilakukan sentrifuge dengan 3000 rpm selama 20 menit. Serum diambil dengan jarum suntik disposibel dan dituangkan ke dalam tabung mikro dan disimpan dalam freezer dengan posisi tegak.

Penentuan kadar NO/EDRF

Kadar NO/EDRF dan VCAM ditentukan dalam serum setelah diberikan MLT, PTU dan bersamaan fraksi etil asetat daun surian selama 60 hari, dengan menggunakan alat spektrofotometer metoda ELISA dengan reagen Griss. Dihitung loncatan *optical density* (OD).

**Analisa data**

Data kadar NO/EDRF. VCAM-1 dianalisa dengan ANOVA 2 arah Kemudian dilanjutkan dengan DUNCAN. Kebermaknaan diambil pada  $P < 0,05$ .

**HASIL DAN DISKUSI****Kadar Oksida Nitrogen (N.O) Serum.**

Pada perhitungan kadar Nitrit Oksida serum, fraksi etil asetat daun surian dapat meningkatkan kadar rata-rata NO. Besarnya kadar rata-rata NO dari kontrol negatif, Fraksi etil asetat 25 mg/KgBB, 50; 100

mg/kgBB, vitamin C dan kontrol positif secara berurutan adalah 560,19  $\mu\text{mol/L}$ , 488,92  $\mu\text{mol/L}$ , 457,08  $\mu\text{mol/L}$ , 423,82  $\mu\text{mol/L}$ , 354,80  $\mu\text{mol/L}$  dan 346,42  $\mu\text{mol/L}$  seperti terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Data Kadar NO setelah diberi fraksi etil asetat daun surian (T. sureni)

Tikus	Kadar NO ( $\mu\text{mol/L}$ )					
	KN	KP	D1	D2	D3	P
1	494,44	283,71	488,25	456,27	421,88	374,56
2	642,37	424,8	501	447,49	416,015	348,46
3	543,75	330,74	477,5	467,49	433,58	341,39
Rata-rata	560,19	346,42	488,92	457,08	423,83	354,80
$\pm$ SD	$\pm 75,32$	$\pm 71,84$	$\pm 11,76$	$\pm 10,02$	$\pm 8,94$	$\pm 17,47$

Keterangan :

KN = Kontrol Negatif

KP = Kontrol Positif

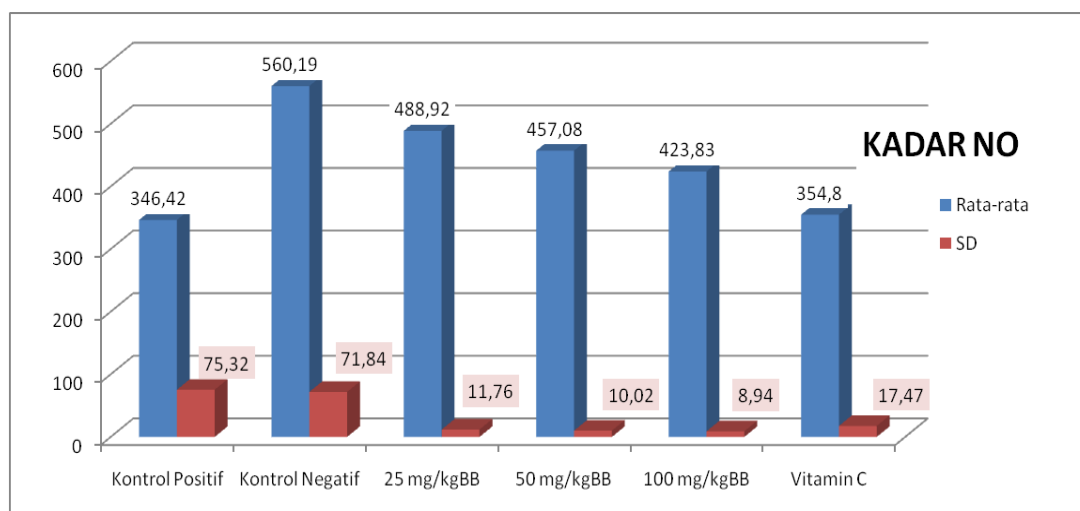
D1 = Fraksi Etil Asetat Daun Surian Dosis 25 mg/KgBB

D2 = Fraksi Etil Asetat Daun Surian Dosis 50 mg/KgBB

D3 = Fraksi Etil Asetat Daun Surian Dosis 100 mg/KgBB

P = Vitamin C 100 mg/KgBB

SD = Standar Deviasi



Gambar 1. Diagram hubungan antara perlakuan dengan rata-rata kadar NO

Dari tabel 1 dan gambar 1 terlihat bahwa peningkatan dosis fraksi kental etil asetat daun surian memberikan efek peningkatan dibandingkan dengan kadar rata-rata NO serum kelompok tikus kontrol positif (hiperkolesterol). Jika dibandingkan dengan pemberian vitamin C pemberian dosis tertinggi 100 mg/kg BB kadarnya NO masih diatas kadar NO tikus hiperkolesterol. Hasil penelitian yang telah dilakukan, vit C dapat meningkatkan sintesis dan aktivitas biologis NO pada kultur sel endotel melalui peningkatan tetrahydrobiopterin (Sukandar, 1998).

Dari pengujian statistic ANOVA satu arah perbedaan kelompok perlakuan mempengaruhi kadar NO secara bermakna ( $P < 0,05$ ). Setelah dilakukan uji lanjut Duncan pada  $\alpha = 0,05$  diketahui kadar NO yang diberikan fraksi etil asetat daun surian dosis 25 mg/KgBB tidak berbeda nyata dengan pemberian dosis 50 mg/kg BBP ( $P > 0,05$ ) tetapi berbeda nyata terhadap kontrol negative ( $P < 0,05$ ), namun sangat berbeda

nyata terhadap pemberian fraksi etil asetat dosis 100 mg/ kgBB, vitamin C dan kontrol positif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi etil asetat daun surian dengan peningkatan dosis ekstrak efek nya sebagai proteksi disfungsi terhadap disfungsi sel endotel berkurang. Adanya efek proteksi ini diduga fraksi etil asetat *T.sureni* mengandung metil galat dan flavonoid yang bersifat antioksidan. Sifat antioksidan ini dapat mencegah LDL pada keadaan hiperkolesterol yang di induksi dengan MLT dan PTU. Sehingga asam lemak tidak jenuh membrane sel endotel tidak teroksidasi. Sebagai diketahui oksidasi asam lemak tak jenuh membrane sel endotel ini awal terjadinya disfungsi sel, sehingga berkurang produksi NO/EDRF.

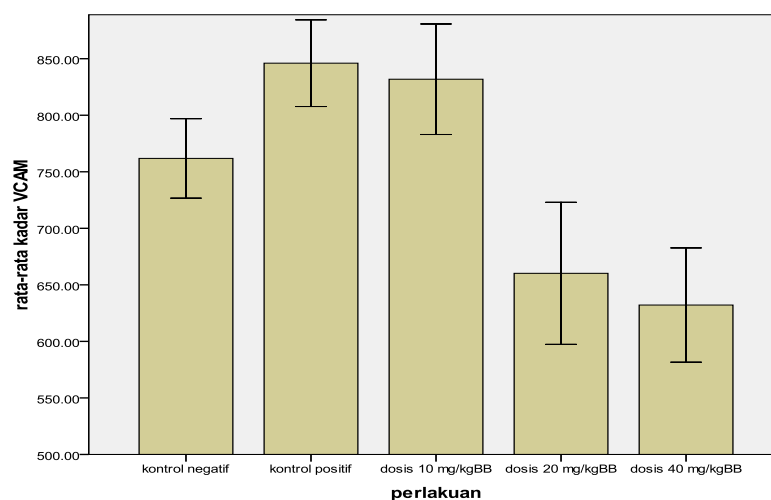
#### Pengukuran Kadar VCAM Serum.

Pada perhitungan kadar VCAM serum, fraksi etil asetat *T.sureni* pada kelompok hewan percobaan yaitu, Besarnya

kadar rata-rata VCAM dari kontrol negatif, adalah 761,82  $\mu\text{mol/L}$ , 846,05  $\mu\text{mol/L}$ , kontrol positif, dosis 25 mg/KgBB, 50 831,85  $\mu\text{mol/L}$ , 660,19  $\mu\text{mol/L}$ , dan 632,14 mg/kgBB, 100 mg/Kg BB secara berurutan  $\mu\text{mol/L}$  .(Tabel 2 dan gambar 2).

**Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar VCAM Setelah Perlakuan**

Perlakuan	kadar VCAM $\mu\text{mol/L}$	SD	Rata-rata
Kontrol negatif	1. 774, 84 2. 741, 84 3. 768, 80	17,57044	761,82
kontrol positif	1. 860, 24 2. 824, 25 3. 853, 65	19,16189	846,05
dosis 25 mg/kg BB	1. 814, 11 2. 821, 72 3. 859,73	24,43991	831,85
dosis 50 mg/kg BB	1. 645, 16 2. 639,12 3. 696, 29	31,40904	660,19
dosis 100 mg/kg BB	1. 653, 52 2. 638, 65 3. 604, 26	25,26637	632,14



**Gambar 2. Diagram batang hubungan perlakuan terhadap rata-rata kadar VCAM**

Hasil pengukuran kadar VCAM terlihat semakin meningkat dosis senyawa hasil isolasi yang diberikan ternyata kadar VCAM semakin berkurang dibanding dengan kadar VCAM serum hewan kontrol positif ( yang diberi makanan lemak tinggi) dan kadar ini lebih kecil dibandingkan kontrol negatif.

Perbedaan kelompok perlakuan mempengaruhi nilai penurunan kadar VCAM

secara bermakna ( $P < 0,05$ ). Fraksi etil asetat mampu menekan produksi VCAM-1 oleh sel endotel pada keadaan hiperkolesterol akibat pemberian makanan lemak tinggi dan PTU seperti terlihat pada tabel 2 dan gambar 2. Jika dihubungkan dengan hasil pengukuran kadar NO hasil memperkuat adanya efek proteksi fraksi eti asetat ini. Pemberian fraksi etil asetat dosis 50 mg/kg BB dan dosis 100 mg/kg BB, kadar VCAM-1 tidak berbeda

nyata ( $P > 0,05$ ), berarti dengan meningkatkan dosis dari 50 mg/Kg BB efek penurunan kadar VCAM tidak menurun dibandingkan dosis 100 mg/Kg BB, tetapi berbeda nyata terhadap kontrol positif.

Kadar VCAM dosis 25 mg/Kg BB tidak berbeda nyata dengan kadar VCAM kontrol positif (kelompok hewan yang diberi

makanan kolesterol tinggi) berarti dosis ini belum mampu menurunkan kadar VCAM yang dihasilkan sel endotel hiperkolesterol, berarti dosis belum mampu melindungi disfungsi sel endotel hiperkolesterol akibat pemberian makanan lemak tinggi..

## KESIMPULAN

Pemberian fraksi etil asetat daun surian (*Toona sureni* BL.Merr) dapat memproteksi disfungsi sel endotel keadaan hiperkolesterol dalam memproduksi NO/EDRF ditandai dengan meningkatnya

kadar NO dibandingkan dengan kadar NO, dan dapat menurunkan kadar VCAM hewan hiperkolesterol.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada DIKTI telah membiayai penelitian ini melalui dana hibah bersaing tahap I sampai tahap III

## DAFTAR PUSTAKA

- Aqil F, I Ahmed, and Z Mehmood. 2006. Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. *Turk J Biol*, 30: 177-183.
- Cybulsky, MI, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001. 107:1209-1210.
- Ekaprasada M Taufik, Hazli Nurdin, Sanusi Ibrahim, Dachriyanus. 2009. Antioxidant Activity Of Methyl Gallate Isolated From The Leaves Of *Toona Sureni*. *Indo. J. Chem.* 9 (3): 457 - 460
- Ghasemi A, M Hedayati and Biabani H. 2007. Protein Precipitation Methods Evaluated for Determination of Serum Nitric Oxide End Products by the Griess Assay . *Journal of Medical Sciences Research*, 15: 29-32.
- Hackam DG. 2006. Intensive reduction of low-density lipoprotein-cholesterol: implications of recent trials. *Am J Cardiovasc Drugs*.6: 367–371.
- Ifmaily. 1996. *Isolasi Flavonoid dari Daun Surian (Toona sureni BL. Merr)*. Jurusan Farmasi.FMIPA Universitas Andalas. Padang.
- Kraus W.1997. Surenone and Surenine Two Novel Tetranortriterpenoid from *Toona sureni* BL. Merr. *Tetrahedron letter* , 29.
- Lawrence GS. 2004. *Implikasi Klinis Disfungsi Endotel dan Radikal Bebas*. Makassar: Unit Riset Vascular, bagian Patologi, FK Unhas, RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo.
- Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, Wight TN, Sueishi K. 2007. Early human atherosclerosis: accumulation of lipid and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27: 986–989.
- Pratt DE. (1992). Natural Antioxidants From Plant Material. In M.T. Huang, C.T. Ho & C.Y. Lee (Ed.). *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health* . Washington DC : American Society.
- Robert L T, 2008. Hyperlipidemia . In DiPiro Joseph T A. *Pharmacotherapy A*

- Pathophysiologic Approach 7 th ed., pp. 385-407 The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Robert O L, K Holmes, J Müller, DA Cross, MJ Cross. Dec 2009. "ERK5 and the regulation of endothelial cell function.". *Biochem Soc Trans.* 37 (6): 1254-1259.
- Rohatgi A; Andrew W. O; Amit Khera; Colby R. Ayers; Kamakki Banks; Sandeep R. Das; Jarett D. Berry; Darren K. McGuire; James A. de Lemos. 2009. Differential Associations Between Soluble Cellular Adhesion Molecules and Atherosclerosis in the Dallas Heart Study Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.;29:1684 American Heart Association, Inc.
- Romy. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol dan Hasil Fraksinasi Daun Surian (*Toona sureni* BL. Merr) secara in-vitro. (Skripsi). Padang: Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.
- Sastroamidjoyo S. 2001. Obat Asli Indonesia. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sukandar YE, I Soediro, and BT Fambrene. 1998. Pengaruh Euchema SPP terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Galur Wistar. 174-179.
- Majalah Farmasi Indonesia. Simionescu M. 2007. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*27: 266–274.
- Xi H, Akishita M, Nagai K, Yu W, Hasegawa H, Eto M, Kozaki K, Toba K. 2007.
- Potent free radical scavenger, edaravone, suppresses oxidative stress-induced endothelial damage and early atherosclerosis. *Atherosclerosis.*; 191: 281–289.
- Yamamoto; Yasutomi Kamei; Minoru Horie; Hirotaka Watada; Yoshihiro Ogawa. 2008. In Vivo and In Vitro Inhibition of Monocyte Adhesion to Endothelial Cells and Endothelial Adhesion Molecules by Eicosapentaenoic Acid Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.;28:2173.) 2008 American Heart Association, Inc.
- Yang Y, Loscalzo J. Regulation of tissue factor expression in human microvascular endothelial cells by nitric oxide. *Circulation* 2000; 101: 2144.
- Weinberg PD . 2004. Rate-limiting steps in the development of atherosclerosis: the response-to-influx theory. *J Vasc Res.* 41: 1–17.



**KONSTRUKSI PRIMER UNTUK DETEKSI SNP RS12255372 PADA GEN  
TRANSCRIPTION FACTOR 7 LIKE 2 (TCF7L2) PENYEBAB DIABETES  
MELITUS TIPE-2 DENGAN METODE AMPLIFICATION  
REFRACTORY MUTATION SYSTEM (ARMS) – PCR**

**Syamsurizal<sup>1</sup>, Yanwirasti<sup>2</sup>, Asman Manaf<sup>2</sup>, dan Jamsari<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa S3 Ilmu Biomedik PPS Universitas Andalas

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

<sup>3</sup>Fakultas Pertanian Universitas Andalas

**ABSTRAK**

Tujuan riset adalah untuk pengembangan sistem deteksi dini DM tipe-2 secara molekuler yang cepat, akurat sehingga dapat membantu pencegahan ataupun pengobatan DM tipe-2 pada etnik Minangkabau. Target khusus riset adalah: Mengkonstruksi primer untuk varian rs12255372 pada gen TCF7L2. Mengetahui kemampuan primer mendeteksi polimorfisme gen TCF7L2 varian rs12255372. Metode penelitian yang dipakai adalah cross sectional study, dengan langkah utama: isolasi DNA, disain primer untuk gen TCF7L2 menggunakan perangkat lunak primer designer, amplifikasi varian rs12255372 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR, dan metode direct DNA sequencing kemudian analisis bioinformatika. Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dikonstruksi tiga buah primer yaitu primer forward RS12F, primer reverse RS12R dan primer forward RS12C. Ketiga primer yang dikonstruksi mampu mengenali SNP rs12255372 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR

**Kata kunci:** SNP rs12255372, gen TCF7L2 dan ARMS-PCR

**PENDAHULUAN**

Angka kejadian dan kematian akibat diabetes melitus sedemikian besar, sehingga sejak 2007, 14 November dijadikan sebagai hari PBB untuk diabetes melitus (*UN World Diabetes Day*). Diabetes melitus merupakan penyakit non infeksi dan tidak menular pertama yang ditetapkan mempunyai *world day* oleh PBB. Sebelumnya, PBB telah menetapkan hari TBC, Malaria, dan HIV/AIDS yang merupakan penyakit infeksi dan menular. Di Indonesia, hari diabetes melitus diperingati setiap 12 Juli.

Di seluruh dunia, diabetes melitus membunuh manusia lebih banyak dibanding HIV/AIDS. Estimasi jumlah orang meninggal karena diabetes melitus tahun 2000 mencapai 6% (3,2 juta orang). Satu dari sepuluh orang meninggal di dunia pada usia 35-64 th adalah dengan riwayat diabetes melitus (Roglic, 2005). Setiap 10 detik satu orang meninggal karena komplikasi diabetes

melitus dan dalam waktu bersamaan ditemukan dua penyandang diabetes melitus baru (Adjikoesoemo, 2008).

Penderita diabetes melitus di dunia setiap tahun mengalami peningkatan, termasuk di Indonesia maupun Sumatera Barat. Prevalensi diabetes melitus di dunia tahun 2000 sebesar 2,8% (171 juta orang) dan proyeksi pada tahun 2030 sebanyak 4,4% (366 juta orang). Estimasi jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia tahun 2000 sebesar 4,1% (8,4 juta dari 205.132.000 orang penduduk Indonesia). Proyeksi pada tahun 2030 jumlah kasus diabetes melitus di Indonesia akan meningkat mencapai 7,8% (21,3 juta dari 273.219.200 orang). Estimasi jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia menempati posisi keempat terbanyak setelah India, Cina dan Amerika (Perkeni, 2011; Perdomo, 2005; Wild *et al.*, 2004)

Prevalensi diabetes melitus di Sumatera Barat 5,2% (Manaf, 2007). Penduduk Sumatera Barat (etnik Minangkabau) memiliki potensi cukup tinggi untuk menderita diabetes melitus karena memiliki pola makan yang kurang baik dengan asupan banyak mengandung karbohidrat, lemak, garam dan sedikit serat. Pola garis keturunan matriakat yang membolehkan “pulang ka bako/ kawin dengan kerabat dekat” menambah peluang meningkatnya diabetes melitus. Disamping itu, gaya hidup yang serba praktis meningkatkan resiko penderita diabetes melitus.

Secara klinis diabetes melitus dibedakan menjadi empat tipe, yaitu tipe I, II, Gestasional dan tipe lain. Diabetes melitus tipe-2 merupakan jenis yang paling sering ditemukan 95% (Adam, 2000; Tjokroprawiro, 2001). Diabetes melitus tipe-2 terjadi karena hormon insulin yang ada dalam darah tidak bekerja secara efektif, meskipun jumlah insulin yang diproduksi sel beta pulau Langerhans pankreas normal. Glukosa yang masuk ke dalam sel berkurang sehingga sel kekurangan sumber energi sehingga glukosa darah meningkat.

Diabetes melitus tipe-2 dipengaruhi beberapa faktor sebagai berikut: riwayat diabetes dalam keluarga, obese, gaya hidup yang berisiko, kurang istirahat, dan stres (ADA, 2008; Joshi, 2006).

Diabetes melitus tipe-2 akan muncul pada seseorang penyandang cacat genetik setelah melalui perubahan genetik dalam waktu yang panjang. Percepatan maupun perlambatan proses perubahan genetik tersebut sangat tergantung pada faktor lingkungan yang mempengaruhinya. Andaikata faktor genetik tidak berkembang kearah perburukan karena faktor lingkungan, maka secara teoritis diabetes melitus tipe-2 tidak akan muncul ke permukaan. Abnormalitas atau kelainan genetik pada tahap awal tanpa gejala apa-apa sehingga secara klinis sulit untuk dikenali (Manaf, 2004). Penanda genetik yang berkembang kearah perburukan namun belum menyebabkan toleransi gula terganggu

(TGT) dapat diketahui melalui analisis DNA. Untuk melakukan analisis DNA diperlukan data genetis berupa gen-gen yang berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2. Beberapa suku bangsa di dunia sudah memiliki gen bank untuk diabetes melitus tipe-2 seperti Kaukasus, Denmark, USA, Inggris, Prancis dan India (Radha, 2007)

Melalui analisis gen, penyandang cacat genetik calon penderita diabetes melitus tipe-2 dapat didiagnosis lebih cepat dan tepat. Banyak orang yang tidak menyadari bahwa mereka sedang menderita diabetes melitus. Nunung (2006), melaporkan bahwa orang yang didiagnosa diabetes melitus tipe-2 sebenarnya telah dijangkiti penyakit ini sejak 8-12 tahun yang lalu. Diagnosis pada penderita diabetes melitus tipe-2 sering terlambat, sehingga sebagian besar dari mereka telah mengalami komplikasi yang serius. Pada etnik Minangkabau pasien mulai mengetahui menderita diabetes melitus pada kisaran usia 45-54 tahun dengan persentase 48% (Halifah, 2009)

Diantara gen-gen yang berasosiasi dengan diabetes melitus tipe-2 adalah gen “transcription factor 7 like 2 (TCF7L2)” pada kromosom 10q. Gen TCF7L2 berasosiasi kuat dengan diabetes melitus tipe-2 pada etnik Denmark, Kaukasia, India, dan etnik pada bangsa-bangsa di Asia (Radha, 2007). Varian gen TCF7L2 dapat dijadikan calon penanda genetik pada etnik Minangkabau penderita diabetes melitus tipe-2.

Salah satu kejutan baru yang ditemukan dalam *Human Genome Project* adalah *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). SNPs merupakan alel minor dengan keberadaannya lebih dari 1%. Apabila SNPs terjadi pada *gene coding regions* bisa mengakibatkan *synonymous* (tidak menyebabkan perubahan asam amino) atau *non synonymous*. Akan tetapi pada penelitian beberapa tahun terakhir SNP *synonymous* mendorong terjadinya evolusi yang mendorong terjadinya suatu penyakit (Komar, 2009). SNP *synonymous* dapat mengubah struktur, fungsi, ekspresi protein. Polimorfisme *synonymous* dapat

menyebabkan splicing RNA, stabilitas dan struktur protein dapat rusak. Perubahan ini dapat menyebabkan efek signifikan pada fungsi protein, perubahan respon seluler. *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) merupakan variasi sekuen DNA yang dapat dihubungkan dengan kerentanan seseorang terhadap suatu penyakit seperti diabetes mellitus tipe-2. Sebagian besar SNPs merupakan non coding region yang merupakan dasar variasi genetik pada manusia dan mengacu pada perbedaan basa tunggal antar individu (Kwook, 2003).

Penanda atau haplotype yang tepat akan dapat memberikan indikasi meningkatnya kerentanan individu terhadap diabetes melitus tipe-2. Perwujudan peningkatan kerentanan dicirikan oleh risiko relatif minimal 1,2-1,4. Varian gen TCF7L2 yang diduga paling kuat berasosiasi dengan

diabetes melitus tipe-2 adalah varian rs12255372. Sekuen rs12255372 adalah TGCCCAGGAATATCCAGGCA AGAAT(G/T)ACCATATTCTGATAATTA CTCAGGC, (Yu, *et al.*, 2009). Kehadiran T alel dalam rs12255372 adalah indikasi meningkatnya kerentanan terhadap diabetes melitus tipe-2, (Florez, 2006; Grant, 2006).

Tujuan riset adalah untuk pengembangan sistem deteksi dini DM tipe-2 secara molekuler yang cepat, akurat sehingga dapat membantu pencegahan ataupun pengobatan DM tipe-2 pada etnik Minangkabau. Target khusus riset adalah: mengkonstruksi primer untuk varian rs12255372 pada gen TCF7L2. Mengetahui kemampuan primer mendeteksi polimorfisme gen TCF7L2 varian rs12255372.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, dimana peneliti mendeskripsikan hasil konstruksi primer dan konfirmasi kemampuan primer mengamplifikasi daerah yang diinginkan. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biomedik FK Unand.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah waterbath, mesin thermocycler (*Polymerase Chain Reaction*), mikrosentrifus, mikropipet, tabung eppendrof, mikrotube, vortex, chamber, rak tabung mikro, power supply, magnetic stirrer, tip, loop, LAFC, PCR tube, kamera. Bahan yang digunakan adalah dNTP's, taq polymerase  $\mu$ L, 10X Buffer,  $MgCl_2$ ,  $H_2O$ , agarose, TAE IX, gel red, aquabides, tris-base, EDTA, asam asetat glasial, 100bp DNA ladder.

Dalam penelitian ini DNA yang digunakan berasal dari darah tepi manusia. Isolat-isolat ini diperlukan untuk menguji apakah primer yang dikonstruksi dapat bekerja mengamplifikasi fragmen DNA yang diinginkan. Data dianalisis secara kualitatif, data yang dianalisis adalah hasil konstruksi primer dan kemampuan primer mengamplifikasi daerah yang diinginkan.

### Konstruksi Primer

Primer yang akan digunakan untuk mendeteksi SNP rs12255372 dari gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR dikonstruksi menggunakan piranti lunak komputer "primer designer". Akan dihasilkan tiga buah hasil konstruksi primer yaitu primer forward RS12F, primer reverse RS12R dan primer forward RS12C. Primer RS12F, primer reverse RS12R digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mencakup daerah  $\pm$  838 bp (selanjutnya disebut primer eksternal). Primer RS12C dan RS12R dipakai untuk mengamplifikasi fragmen berukuran  $\pm$  384 bp, daerah yang meliputi SNP rs12255372 (disebut primer internal). Sekuen gen TCF7L2 yang akan digunakan untuk konstruksi primer ini diperoleh dari *gen bank* NCBI.

Konfirmasi dilakukan menggunakan *software* untuk melihat adanya kemungkinan *mispriming* primer dengan daerah-daerah lain pada gen TCF7L2 selain daerah yang akan diamplifikasi. Jika tidak ditemukan kemungkinan adanya *mispriming* maka selanjutnya hasil konstruksi primer siap untuk disintesis menjadi oligonukleotida

primer. Kemampuan primer mengamplifikasi daerah yang diinginkan. Dilakukan dengan urutan kegiatan sebagai berikut : Isolasi DNA menggunakan kit dari Invitrogen. Selanjutnya hasil isolasi DNA di elektroforesis.

Amplifikasi dengan metode ARMS-PCR. DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya di amplifikasi dengan menggunakan primer yang dikonstruksi dengan mix PCR RTG/ Go Tag Green. Untuk mengetahui hasil amplifikasi, dilakukan elektroforesis pada gel agarose 1,5

%. Langkah-langkah yang akan dilakukan selama penelitian:

1. Isolasi DNA dari sampel
2. Disain primer untuk gen TCF7L2 menggunakan perangkat lunak primer designer.
3. Optimasi reaksi PCR menggunakan primer hasil rancangan
4. Amplifikasi gen TCF7L2 dengan PCR
5. ARMS-PCR dan sequencing untuk analisis situs polimorfik.
6. Analisis bioinformatika

## HASIL DAN DISKUSI

Salah satu hal yang sangat penting dalam reaksi PCR ialah konstruksi atau pemilihan primer DNA yang tepat. Primer bertanggung jawab untuk mengenali dan menandai segmen DNA *template* yang akan di amplifikasi. Pada penelitian ini dihasilkan tiga buah primer yaitu primer forward RS12F, primer reverse RS12R dan primer

forward RS12C. Primer RS12F, primer reverse RS12R digunakan untuk mengamplifikasi DNA yang mencakup daerah  $\pm 838$  bp (selanjutnya disebut primer eksternal). Primer RS12C dan RS12R dipakai untuk mengamplifikasi fragmen berukuran  $\pm 384$  bp, untuk lebih jelas lihat table 1.

Tabel 1. Hasil rekonstruksi primer RS12C

Sequence: 5'- GGAATAGCCAGGCAAGAATG-3'			
Kriteria	Pengaturan kriteria	Hasil	Ket
% GC	Min 50, Max 60	50	YES
Tm C	Min 55, Max 80	70	YES
No Hairpins	Energy cutoff 0.0 kcal	-	YES
No 3' Dimers	Reject $\geq 3$ matches pada ujung 3'	2	YES
No Dimers	Reject $\geq 7$ batasan homol basa	3	YES
No Runs	Reject $\geq 3$ basa runs	2	No
No 3'GC runs	Reject $\geq 3$ G atau C pada ujung 3'	1	YES

Spesifisitas konstruksi primer yang dibuat selanjutnya dikonfirmasi dengan *software*. Hal ini dilakukan untuk menghindari kemungkinan *mispriming* primer dengan daerah lain pada gen TCF7L2 selain daerah yang akan di amplifikasi. Hasil alignment primer dengan DNA Gen TCF7L2 dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari gambar 1 bisa dilihat bahwa posisi penempelan primer rs12C berada sequence 103894 dari DNA TCF7L2.

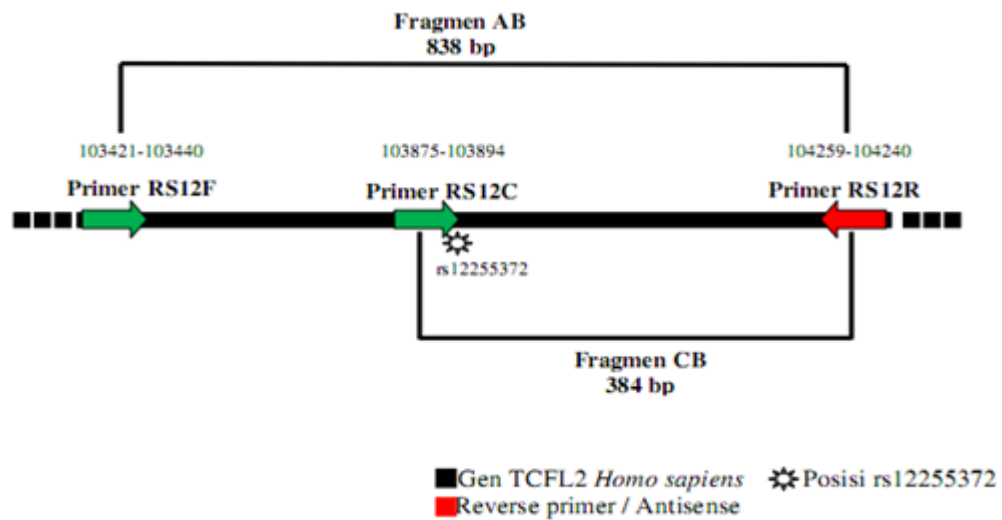
Penempelan primer pada posisi tersebut sesuai dengan yang diprediksi sebelumnya bahwa primer internal rs12C akan mengenali daerah yang mengalami SNP. Secara teoritis *annealing* primer rs12C akan dimulai dari posisi 103894 serta tidak ditemukan adanya kemungkinan *mispriming*. Posisi penempelan primer dan besarnya pita/fragmen DNA yang terbentuk secara relatif dapat dilihat pada gambar 2.

Tabel 2. Hasil konstruksi primer RS12F dan RS12R

<b>Primer RS12F</b>	<b>Sequence: 5'- TGTCTAATTGCCACAGCAGC -3'</b>			
	Kriteria	Pengaturan kriteria	Hasil	Ket
	% GC	Min 50, Max 60	50	YES
	Tm C	Min 55, Max 80	70	YES
	No Hairpins	Energy cutoff 0.0 kcal	-	YES
	No 3' Dimers	Reject >= 3 matches pada ujung 3'	2	YES
	No Dimers No	Reject >= 7 batasan homol basa	4	YES
	Runs	Reject >= 3 basa runs	2	YES
	No 3'GC runs	Reject >= 3 G atau C pada ujung 3'	2	YES
<b>Primer RS12R</b>	<b>Sequence: 5'- CAGAGGTGGTGATAAGCGGT -3'</b> (Complementary strand)			
	Kriteria	Criteria Setting	Hasil	Ket
	% GC	Min 50, Max 60	55	YES
	Tm C	Min 55, Max 80	70	YES
	No Hairpins	Energy cutoff 0.0 kcal	-	YES
	No 3' Dimers	Reject >= 3 matches pada ujung 3'	1	YES
	No Dimers No	Reject >= 7 batasan homol basa	2	YES
	Runs	Reject >= 3 basa runs	2	YES
	No 3'GC runs	Reject >= 3 G atau C pada ujung 3'	0	YES



Gambar 1. Hasil *alignment* primer dengan Gen TCF7L2



Gambar 2. Posisi penempelan primer dan besarnya pita/fragmen DNA yang terbentuk

Untuk mengetahui kemampuan primer yang dikonstruksi dalam mendeteksi SNP pada gen TCF7L2 khususnya SNP rs12255372, maka dilakukan pengujian dengan PCR. Prinsip PCR adalah melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu secara invitro. Agar dapat mengenali sekuen yang akan dilipatgandakan dibutuhkan suatu primer yang khusus dan spesifik. Daerah yang dikenal primer inilah yang nantinya akan dilipatgandakan hingga ribuan bahkan jutaan kopi, sekitar  $10^6 - 10^7$  kali (Fatchiyah dkk, 2008;25) sehingga setelah dielektroforesis akan terlihat pita dari DNA yang diamplifikasi tersebut.

Tahap awal konfirmasi primer dilakukan secara terpisah sesuai dengan kondisi masing-masing pasangan primer. Faktor yang harus diperhatikan dalam mendapatkan hasil yang optimum dalam PCR adalah jumlah/konsentrasi mix yang digunakan. Masing-masing komponen tersebut memiliki peranan yang sangat penting dalam suatu reaksi PCR. Komposisi enzim, *template*, dNTP,  $MgCl_2$ , buffer dan primer yang tepat sangat menentukan berhasil suatu reaksi PCR. Komposisi mix yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Mix untuk Reaksi ARMS-PCR untuk SNP rs12255372

	Stok	Akhir	Volume
Go Tag Green MM	2 $\mu$ M	1 $\mu$ M	12,5 $\mu$ L
Primer rs-12 C	10 $\mu$ M	0,6 $\mu$ M	1,5 $\mu$ L
Primer rs-12 F	10 $\mu$ M	0,1 $\mu$ M	0,25 $\mu$ L
Primer rs-12 R	10 $\mu$ M	0,4 $\mu$ M	1 $\mu$ L
$MgCl_2$	50 $\mu$ M	3 $\mu$ M	1,5 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O			7,25 $\mu$ L
DNA template		1	1 $\mu$ L

Produk= 25

Program PCR yang dipakai adalah Profil touchdown PCR

95°C	95°C		72°C	95°C			72°C	95°C		72°C	72°C	
3'	30"	70°C	1'	30"	70°C-60°C	1'	30"	60°C	1'	7'	12°C	
		30"			30"			30"			10'	
		5x			10x			20x				

DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya dielektroforesis pada gel agarose 1,5 % untuk membuktikan

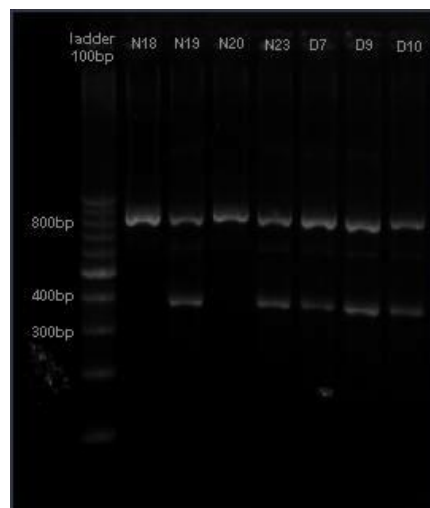
keberhasilan isolasi DNA dari sampel. Untuk lebih jelasnya lihat gambar 3.



Gambar 3. Hasil isolasi DNA dari darah setelah di elektroforesis

DNA yang diperoleh dari hasil isolasi, selanjutnya di amplifikasi menggunakan primer yang dikonstruksi dengan mix PCR RTG/ Go Tag Green. Hasil amplifikasi PCR dianalisis menggunakan teknik elektroforesis pada agarose. Elektroforesis merupakan proses bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran molekul tersebut. Agarose dan poliakrilamid merupakan matriks

penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Pada penelitian ini digunakan agarose 1,5 %. Menurut Sambrook and Russel (1990;6.2) agarose 1,5 % sangat cocok untuk memisahkan fragmen DNA berukuran 200–300 basa. Lokasi dari DNA yang terdapat pada gel bisa diamati dengan staining menggunakan gel red, sehingga nantinya bisa dilihat sewaktu gel diletakkan diatas GelDoc. Visualisasi hasil elektroforesis produk PCR menggunakan pasangan primer dapat dilihat pada Gambar 4.

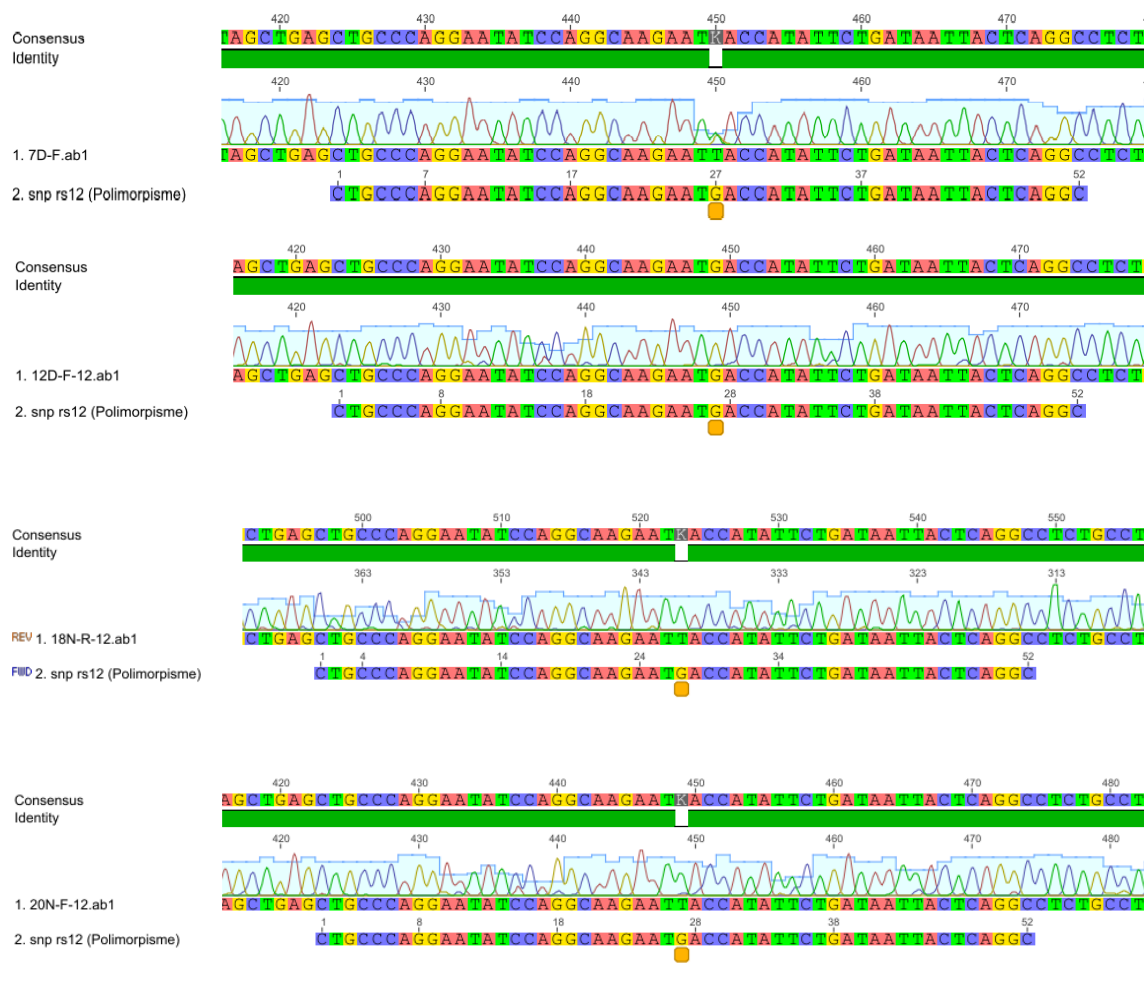


Dari data tersebut bisa diketahui bahwa reaksi ARMS-PCR yang dilakukan bisa digunakan untuk mendeteksi SNP pada gen TCF7L2 khususnya SNP rs12255372. Tetapi metode ini memiliki keterbatasan diantaranya: reaksi ini tidak mungkin bisa mendeteksi 100 % SNP pada gen TCF7L2. Walaupun demikian spesifitas dan sensitifitasnya yang tinggi dalam mendeteksi SNP dapat dijadikan sebagai salah satu faktor mengapa metode ini bisa digunakan. Selain itu jika dibandingkan dengan metode deteksi SNP lainnya, reaksi ARMS-PCR memiliki beberapa keuntungan diantaranya lebih murah dan mudah diaplikasikan. Proses/waktu pelaksanaannya lebih singkat, mulai dari persiapan reagen, peralatan

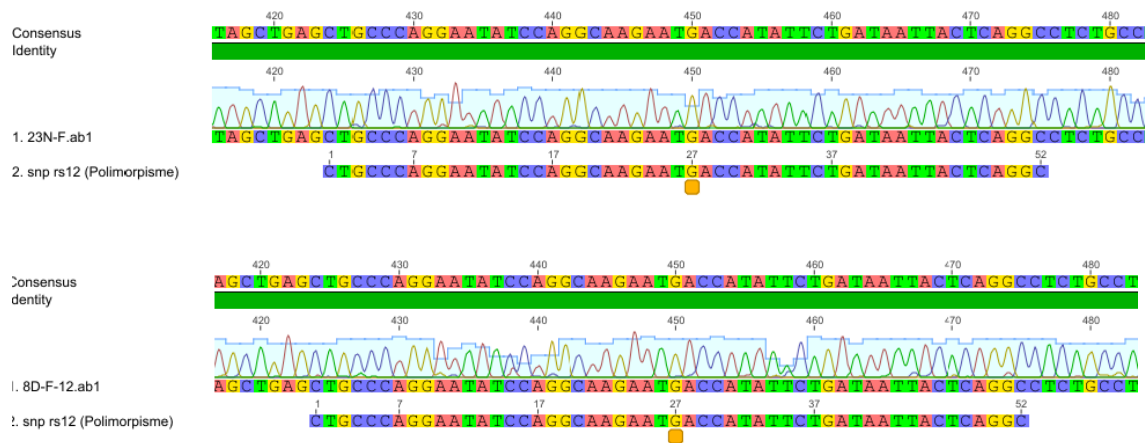
termasuk penambahan DNA genom (*template*), ARMS-PCR amplifikasi dan elektroforesis pada agarose bisa diselesaikan dalam satu hari. Pengaplikasiannya yang cepat dan metode yang mudah untuk mendeteksi SNP rs12255372 merupakan nilai yang sangat penting untuk pencegahan DMT2.

### Hasil sekuensing

Enam sampel dilakukan sekuensing untuk memastikan akurasi dari metode ARMS-PCR. Berdasarkan hasil sekuensing terdapat kesesuaian dengan metode ARMS-PCR. Hasil sekuensing dapat dilihat pada gambar berikut:







Gambar 5 Hasil sekuensing sampel yang mengalami polimorfisme pada **rs12255372** dimana terjadi perubahan basa G menjadi T

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa telah berhasil dikonstruksi tiga buah primer yaitu primer forward RS12F, primer reverse RS12R dan

primer forward RS12C. Ketiga primer yang dikonstruksi mampu mengenali SNP rs12255372 gen TCF7L2 dengan metode ARMS-PCR

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Rektor UNP yang sudah memfasilitasi penelitian ini sehingga dapat disponsori melalui hibah disertasi doktor dari Dirjen Dikti Kementerian

Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Begitu juga segenap staf di laboratorium Biomedik FK Unand yang turut membantu keberhasilan penelitian ini

## DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association/ADA, 2010. Standards of Medical Care in Diabetes 2010. *Diab Care*: 33
- Bardakci F, 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turk J Biol* 25:185-196
- Florez JC, *et al.*, 2006. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N. Engl. J. Med.* 355, 241–250
- Grant S F, *et al.*, 2006. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature Genet.* 38: 320–323
- Halifah S, 2009. *Kecendrungan Pola Pewarisan Diabetes Mellitus Pada Etnik Minangkabau Berdasarkan Analisis Pedigre*. Padang: FMIPA UNP
- Joshi, Shashank R, 2006. *Family History and Pedigree Charting- A Simple Genetic Tool For Indian Diabetics*. (<http://id.www.hindujahospital.com/IDCC2006>. diakses tanggal 10 september 2008 )
- Kahn H S, Mariaelisa Graff, Aryeh D Stein dan L H Lumey, 2009. A fingerprint marker from early gestation associated with diabetes in middle age: The Dutch Hunger Winter Families Study. *International Journal of Epidemiology* 38:101-109.
- Komar A (ed). 2009. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and*

- Protocols*. Cleveland, USA: Humana Press
- Kwok PY (ed). 2003. *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*. Totowa, NJ: © Humana Press Inc.
- Maidin MA, 2005. Harapan Dan Tantangan Aplikasi Reaksi Rantai Polimerase (PCR) Multipleks Dalam Pemberantasan Tb Paru Di Indonesia (Suatu Pendekatan Biologi Molekuler). *Suplement*: 26. No.3
- Manaf A, 2011. *Harmonizing The Metabolic Syndrome With Prediabetes*. Makalah
- Perdomo RP, 2005. *Epidemiology of Diabetes; Prevalence, Complications and Health Services Disparities*. Para Puerto Rico: Centro de Diabetes
- PERKENI, 2011. *Konsesnsus Pengelolaan dan pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PB PERKENI.
- Radha V and Mohan V, 2007. Genetic Predisposition To Type 2 Diabetes Among Asian Indians. *Mellitus. Indian J Med Res* 117: 259-274
- Radha V, Vimalaswaran KS, Deepa R & Mohan V, 2003. The Genetic of Diabetes Mellitus. *Indian J Med Res* 117: 225-238
- Roglic G, Unwin N, 2005. Global Mortality, Attributable to diabetes: time for a realistic estimate. *Diabetes Voice* 50: 33-34
- Sladek R. *et al.*, 2007. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 445: 881-885
- Soegondo S, Soewondo P, Subekti I, Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Stumvoll M, Goldstein B, & Van Haeten T, 2008. *Pathogenesis of Type 2 DM*.
- Tjokroprawiro A, 2002. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Balai penerbit Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Valance O, 2006. Synalbumin Insulin Antagonism and Diabetes. *Ciba Fdn Colloq* 15: 217-234.
- WHO, 1994. *Pencegahan Diabetes Mellitus*. Hipokrates : Jakarta
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H, 2004. Global Prevalence of Diabetes, Estimate for the year 2000 and projection for 2030. *Diabetes Care* 27: 1047-1053.
- Yu, J, Andrea K. Steck, Sunanda Babu, Liping Yu, Dongmei Miao, Kim McFann, John Hutton, George S. Eisenbarth, and Georgeanna Klingensmith, 2009. Single Nucleotide Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene Polymorphisms in Antiislet Autoantibody-Negative Patients at Onset of Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94:504-510

## PENYIAPAN RADIOIMUNOKONJUGAT $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3-NIMOTUZUMAB UNTUK RADIOIMUNOTERAPI KANKER

Vanji I. Azis, Rini Agustin, Salman, Martalena Ramli<sup>(\*)</sup>

Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

<sup>(\*)</sup>Pusat Radioisotop dan Radiofarmaka Kawasan Puspiptek Serpong Gedung 11, Tangerang Selatan-Indonesia

### ABSTRAK

Radioimunoterapi adalah pengobatan yang potensial targeted secara spesifik dengan menggunakan antibodi monoklonal bertanda radioaktif. Nimotuzumab adalah antibodi monoklonal humanized IgG1 yang secara selektif pada domain ekstrasellular menghambat reseptor EGF (*Epidermal Growth Factor*) menuju reseptor EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*). Reseptor EGFR berperan penting untuk proliferasi sel kanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk menyiapkan suatu sintesis konjugat yang berpotensi sebagai radioimunoterapi. Sintesis konjugat dilakukan dengan beberapa tahapan reaksi konjugasi. Karakterisasi hasil sintesis dilakukan dengan HPLC menggunakan kolom *size exclusion* (SE) menunjukkan adanya puncak pada tR (waktu retensi) 7,377 menit sedangkan nimotuzumab 7,471 menit. Keberhasilan sintesis konjugat ini juga dilakukan dengan melakukan penandaan konjugat dengan  $^{177}\text{Lu}$  dan dilakukan uji *non specific binding* dengan metode KLT dan dimonitor dengan *TLC-Scanner* pada EDTA, DOTA-PAMAM G3, Nimotuzumab. Hasil yang diperoleh menunjukkan kompleks  $^{177}\text{Lu}$ -konjugat  $R_f < 1$  ( $\sim 0$ ), sedangkan pada  $^{177}\text{Lu}$ -EDTA,  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA,  $^{177}\text{Lu}$ -Nimotuzumab pada  $R_f \geq 1$

**Kata kunci:** radioimunokonjugat, nimotuzumab,  $^{177}\text{Lu}$

### PENDAHULUAN

Kanker adalah salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Berdasarkan data World Health Organization (WHO) tahun 2010, pada tahun 2005 kematian akibat kanker di dunia mencapai 7 juta, 11 juta kasus baru, dan 25 juta orang hidup dengan kanker. Diperkirakan tahun 2030 kematian akibat kanker meningkat menjadi 17 juta, 27 juta kasus baru, dan 75 juta orang hidup dengan kanker. Dari 75 juta jiwa tersebut 70% hidup di negara berkembang termasuk Indonesia. Berdasarkan laporan Globocan, di Indonesia penderita kanker pada tahun 2008 sekitar 292 ribu-an dan sekitar 214 ribu-an menyebabkan kematian.

Terapi terarah merupakan modalitas terapi yang paling banyak dikembangkan dekade terakhir ini. Terapi terarah (*targeted therapy or molecularly targeted therapy*) adalah sejenis modalitas terapi yang bersifat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan

cara menginterferensi sistem yang menyebabkan karsinogenesis dan pertumbuhan sel dengan menggunakan molekul khusus yang terarah. Modalitas terapi ini tidak seperti modalitas terapi tidak terarah (kemoterapi) yang hanya menginterferensi sel-sel kanker yang membelah dengan cepat. Oleh karena itu modalitas terapi yang bersifat terarah ini jauh lebih efektif dan lebih aman terhadap sel normal dibandingkan modalitas terapi kanker yang tidak terarah. Hasil dari pengembangan modalitas terarah tersebut adalah penggunaan beberapa biomolekul seperti antibodi monoklonal (mAb) pada terapi kanker. Nimotuzumab (h-R3) suatu mAb yang merupakan anti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) yang telah memasuki fase klinik III yang berkaitan dengan evaluasi, efikasi, dan keselamatan penggunaan untuk terapi kanker glioblastoma, payudara, kepala,

leher, kolon, prostat, ovarium, tiroid, dan lain-lain [2].

Pengembangan radioimmunokonjugat yang mampu bersinergi antara kemampuan mAb yang tidak hanya berikatan dengan target reseptor secara spesifik tetapi juga mampu menghentikan berkembang dan menyebarnya keganasan dengan radionuklida pemancar partikel alfa, beta, atau *auger electron* yang mampu mentransfer energi (*cross fire*) pada sel kanker yang ada disekitarnya yang pada akhirnya dapat menghancurkan sel kanker tersebut. Terapi keganasan dengan radiofarmaka jenis ini bersifat terarah (*targeted*) sehingga bisa lebih efektif dibandingkan dengan penggunaan mAb atau terapi radiasi eksternal secara tunggal [3].

Lutesium-177 adalah radionuklida pemancar partikel  $\beta^-$  relatif lunak dengan  $E_{max}$  497 KeV (78,6%) dan 176 (12,2%) KeV dengan kemampuan penetrasi  $\sim 1,5$  mm yang sesuai untuk kanker berukuran kecil dan ideal untuk penanganan terapi pada tumor jaringan lunak. Karakter energi radiasi ini didukung pula dengan waktu paruh yang 6,65 hari menjadikan radioisotop  $^{177}\text{Lu}$  sebagai radioisotop pilihan dalam bidang kedokteran nuklir, khususnya dalam penggunaan sebagai senyawa biologis aktif atau antibodi bertanda. Banyak sekali pengembangan radiofarmaka baru untuk terapi kanker yang menggunakan  $^{177}\text{Lu}$  sebagai salah satu komponennya [4].

Nimotuzumab adalah mAb yang pada dasarnya merupakan molekul protein yang tidak bisa langsung ditandai dengan  $^{177}\text{Lu}$ . Oleh sebab itu untuk mendapatkan nimotuzumab bertanda  $^{177}\text{Lu}$ , nimotuzumab harus dimodifikasi sedemikian rupa sehingga mampu mengikat  $^{177}\text{Lu}$  dengan stabil. Pada umumnya modifikasi dilakukan dengan

mengkonjugasi *bifunctional chelating agent* (BFCA), senyawa yang memiliki dua gugus fungsi, dimana satu gugus fungsi dapat mengikat  $^{177}\text{Lu}$  dengan stabil, sedang gugus fungsi yang lain mampu membentuk ikatan yang stabil dengan mAb. Titis Sekar Humani (2010) [5]. melaporkan penggunaan BFCA, 1,4,7,10-tetraazacyclododecane- $\text{N,N',N'',N'''}\text{-tetraacetic acid}$  (DOTA) dalam penyiapan kandidat radiofarmaka  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Nimotuzumab yang sangat stabil. Hasil uji stabilitas setelah penyimpanan selama 96 jam dalam larutan dapar fosfat baik pada suhu kamar ataupun pada suhu  $4^\circ\text{C}$ , serta dalam serum pada suhu  $37^\circ\text{C}$  memperlihatkan hampir tidak ada  $^{177}\text{Lu}$  yang terlepas dari  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Nimotuzumab. Tetapi hasil penelitian ini hanya mampu memberikan  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Nimotuzumab dengan radioaktivitas yang relatif rendah.

Dalam penelitian ini akan disiapkan radioimunoterapi berbasis nimotuzumab yang ditandai dengan  $^{177}\text{Lu}$  dengan menggunakan DOTA sebagai BFCA. Tidak seperti yang dilaporkan oleh Titis Sekar Humani (2010), pada penelitian ini akan digunakan *polyamidoamine* generasi ke tiga (PAMAM- G3) sebagai komponen tambahan yang dapat berikatan dengan  $\leq 32$  molekul DOTA. Penggunaan PAMAM-G3 pada kandidat radiofarmaka berbasis nimotuzumab diharapkan dapat memberikan  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dengan radioaktivitas yang tinggi yang dibutuhkan pada radioimmunoterapi. Peningkatan radioaktivitas  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM-Nimotuzumab ini sejalan dengan kemampuan PAMAM-G3 untuk mengikat  $\leq 32$  molekul DOTA yang pada gilirannya akan mengikat  $^{177}\text{Lu}$  sesuai dengan jumlah molekul DOTA yang terkonjugasi pada PAMAM-G3.

## METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nimotuzumab (Innogen Kalbe Tech), sulfo-N-hydroxisulfosuccinimide-DOTA (sulfo-

NHS-DOTA) (Macrocyclic), PAMAM G3, resin penukar ion Chelex-100 (Bio-Rad), resin Sephadex G-25 M dan column PD 10 (GE Healthcare Life Science), kaset dialisa (

slide A lyzer) dengan molecular weight cut off (MWCO)-20 kilo Dalton (KD), sulfo-succinimidyl-4-[N-maleimidomethyl]cyclohexane-1-carboxylate (Sulfo-SMCC), 2-iminothiolane (Thermo Scientific), larutan salin (IPHA), ammonium asetat,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{NaOH}$ , dan EDTA (E. Merck), air bebas ion (hambatan 18 MegaOhm) didapat dari sistem stedium (Sartorius),  $^{177}\text{Lu}$  ( $^{177}\text{LuCl}_3$ ) diperoleh dari hasil irradiasi  $^{176}\text{Lu}$  ( $^{176}\text{Lu}_2\text{O}_3$ ) dengan pengkayaan 60% (Isoflex) di Reaktor Serba Guna-GA Siwabessy yang kemudian diproses di laboratorium PRR-BATAN.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah kromatografi cair tingkat tinggi (KCKT) yang dilengkapi dengan detector UV-Vis (Shimadzu), *thermomixer* (Eppendorf), pencacah kromatografi lapisan tipis (KLT) (BioScan), UV-Vis palte reader (Bio-Tek), Magnetic stirrer (Labcompanion) dan pipet mikro berbagai ukuran (Eppendorf).

## Metode

### Pemurnian Nimotuzumab

Pemurnian Nimotuzumab dari bahan-bahan eksipiennya dilakukan dengan menggunakan kaset dialisis dengan MWCO 20 KD dengan menyuntikkan nimotuzumab 3 mg/mL ke dalam kaset. Dialisis dilakukan dengan (PBS) 0,1 M pH 7.4 dengan 1,2 g ion chelex dengan 3-4 kali penggantian PBS.

### Modifikasi PAMAM G3 dengan DOTA

Sejumlah (2,5 mg, 0,36  $\mu\text{mol}$ ) PAMAM G3 (2,5% dalam metanol) dipipet kedalam tabung mikro yang berisi 1 mL larutan dapar fosfat 0,1M pH 7,2. Kemudian ditimbang sejumlah sulfo-NHS-DOTA dan larutkan dalam dapar fosfat 0,1 M pH 7,2. Ditambahkan aliquot larutan sulfo-N-hydroxisulfosuccinimide-DOTA (11  $\mu\text{mol}$ ) kedalam larutan PAMAM G3, jika diperlukan diaatur pH sampai menjadi 7,2. Setelah itu dicampurkan dan dibiarkan untuk bereaksi selama 24 jam pada 4°C. Sulfo-NHS-DOTA yang tidak bereaksi dengan PAMAM G3 kemudian dipisahkan dengan cara kromatografi penyaringan molekul

dengan menggunakan kolom Sephadex G-25 M dengan dapar fosfat 0,05M pH 7,4 yang mengandung EDTA 5mM sebagai eluent.

### Aktivasi gugus $-\text{NH}_2$ yang tersisa dari DOTA-PAMAM G3

Ditambahkan Aliquot (0,36  $\mu\text{mol}$ ) 2-iminothiolane dalam dapar fosfat 0,05M yang mengandung EDTA 5mM kedalam larutan DOTA-PAMAM G3 dalam larutan yang sama. Kemudian diinkubasi selama 1 jam pada temperatur kamar di bawah aliran  $\text{N}_2$ .

2-Iminothiolane yang tidak bereaksi dengan DOTA-PAMAM G3 kemudian dipisahkan dengan kromatografi penyaringan molekul dengan menggunakan kolom Sephadex G-25 dengan 0,05M dapar fosfat 0,05M pH 7,4 yang mengandung EDTA sebagai eluent.

### Aktivasi nimotuzumab

Diambil sejumlah sulfo-SMCC kemudian dilarutkan dengan sedikit DMSO, kemudian dengan buffer PBS 0,1 M pH 7,2 mengandung EDTA 5mM yang memberikan konsentrasi 1mg/mL. Kemudian aliquot sulfo-SMCC (3,60  $\mu\text{mol}$ ) ditambahkan ke dalam larutan nimotuzumab (3,60  $\mu\text{mol}$ ). Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada temperatur kamar. Setelah itu, Nimotuzumab-SMCC yang terbentuk kemudian dimurnikan dari hasil reaksi lain dengan kromatografi penyaringan molekul dengan menggunakan kolom Sephadex G-25 dengan dapar fosfat 0,05 M pH 7,4 yang mengandung 5mM EDTA sebagai eluent.

### Konjugasi DOTA-PAMAM G3- SH dengan nimotuzumab-SMCC

Ditambahkan larutan nimotuzumab-SMCC ke dalam larutan DOTA-PAMAM-SH. Kemudian diinkubasi selama satu malam pada 4°C. Dimurnikan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dengan cara didialisis hasil konjugasi dengan 0,25 ammonium asetat pH 7,5 dengan 1,2 gr Chelex 100 resin dengan 4 kali penggantian buffer (setiap 12 jam).

Karakterisasi konjugat DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dengan sistem HPLC-SEC menggunakan dapar PBS 0,01 M pH 7,4.

### Penyiapan $^{177}\text{LuCl}_3$

Larutan  $^{177}\text{LuCl}_3$  disiapkan dengan cara mengiradiasi 0,3 mg  $^{176}\text{Lu}$  ( $^{176}\text{Lu}_2\text{O}_3$ , pengkayaan 60,60%) di RSG-GAS selama 4-10 hari. Target yang telah diiradiasi dipindahkan kedalam gelas beaker dan kemudian ditambahkan 2 mL HCl 6 M. Campuran reaksi kemudian didiamkan selama 30 menit sebelum ditambahkan 2mL  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Campuran reaksi kemudian dipanaskan dengan pengadukan sampai kering. Garam Lu-177 yang terbentuk kemudian dilarutkan dengan 3 mL HCl 0.025 M.

### Penandaan imunokonjugat DOTA-PAMAM G3 dengan $^{177}\text{Lu}$

Tambahkan aliquot  $^{177}\text{LuCl}_3$  (yang telah dikondisikan dengan ammonium asetat 0,25 M pH 6,5 ; 1:3 ). Campuran kemudian diatur pH nya sampai menjadi 5,5 dengan penambahan larutan HCl 1 M atau NaOH 1 M. Campuran kemudian diinkubasi pada

suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Pada akhir reaksi ditambahkan larutan EDTA 0,05 M secara berlebih (mol EDTA : Lu = 20 : 1) dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu  $37^\circ\text{C}$ . Untuk menentukan persentase penandaan 2-5  $\mu\text{L}$  contoh kemudian diambil dan dianalisa menggunakan KLT dengan fase diam dan fase gerak masing-masing ITL-SG dan larutan salin. Persentase penandaan dihitung berdasarkan total cacah yang berada di bawah puncak radioimmunokonjugate dibandingkan terhadap cacah total yang diaplikasikan.

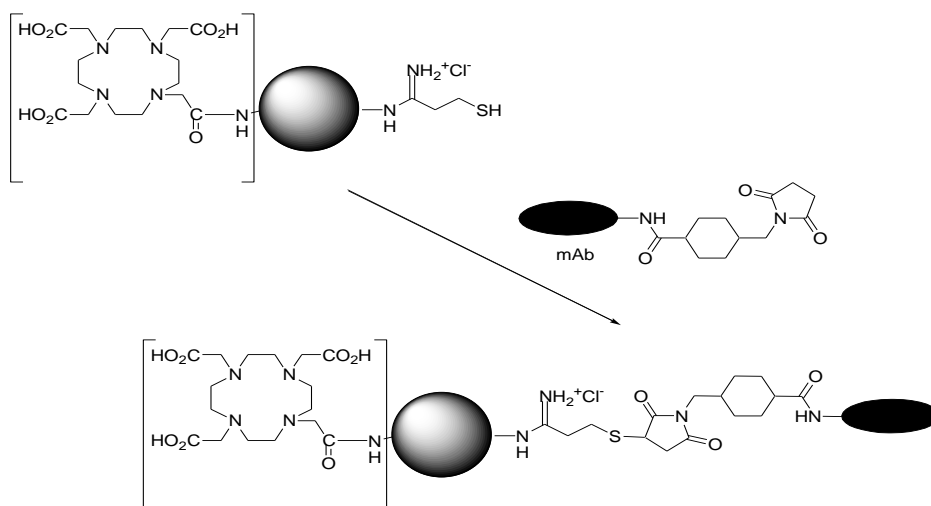
### Uji *non specific binding*

Dipipet masing-masing *non specific binding* ( $^{177}\text{Lu}$ -EDTA,  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA,  $^{177}\text{Lu}$ -Nimotuzumab) sebanyak 1  $\mu\text{L}$  kemudian totolkan pada plat ITLS-SG sebagai fase diam dan fase gerak larutan salin. Presentase penandaan yang diperoleh dimonitor dengan menggunakan *TLC scanner* Bioscan.

## HASIL DAN DISKUSI

Sintesis imunokonjugat DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab kandidat radiofarmaka  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dilakukan dengan 4 tahapan reaksi yang meliputi : a) konjugasi BFCA NHS-DOTA pada PAMAM G3, b) aktivasi –

$\text{NH}_2$  yang tersisa dari DOTA-PAMAM G3 dengan 2-iminothiolane, c) aktivasi Nimotuzumab dengan SMCC, d) konjugasi DOTA-PAMAM G3-SH dengan Nimotuzumab-SMCC. Seperti yang digambarkan pada Gambar.1.



Gambar 1. Mekanisme reaksi sintesis imunokonjugat

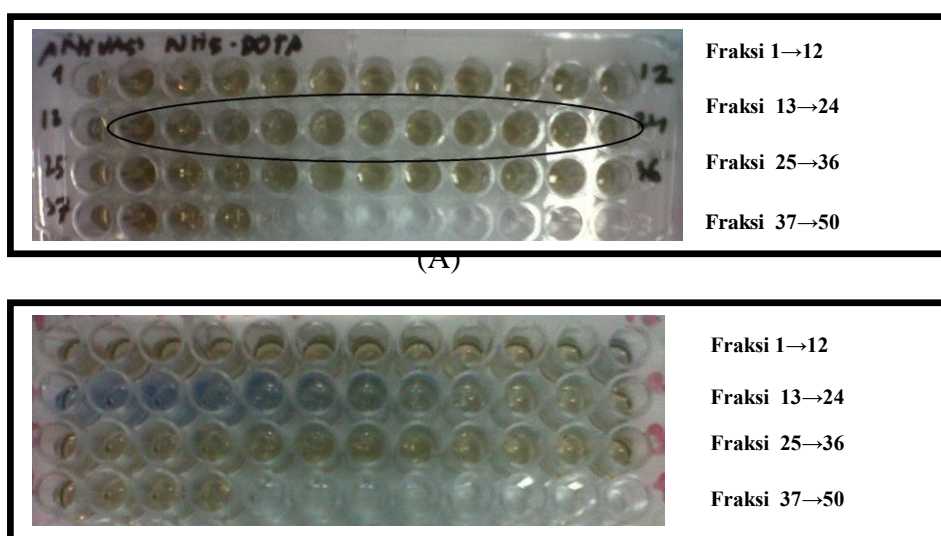
Penggunaan dendrimer PAMAM G3 dikarenakan dendrimer PAMAM G3 memiliki 32 gugus permukaan amina yang dapat dimanfaatkan untuk berkonjugasi dengan senyawa penggelat yang digunakan yaitu NHS-DOTA dengan berikatan dengan  $\text{NH}_2$  (PAMAM G3) membentuk ikatan amida yang merupakan tahapan reaksi pertama.

Tahapan reaksi kedua adalah melakukan aktivasi terhadap gugus fungsi –  $\text{NH}_2$  PAMAM G3 yang tidak bereaksi dengan DOTA dengan menggunakan 2-iminothiolane. Tahapan reaksi kedua ini bertujuan menyediakan gugus sulfhydryl (-SH) pada DOTA-PAMAM G3 yang akan bereaksi dengan Nimotuzumab yang telah diaktivasi dengan SMCC.

Menurut Greg T. Hermanson (2008) [6], suatu protein yang dimodifikasi dengan 2-iminothiolane dapat membentuk disulfida dengan oksidasi sulfhidril. Oleh karena itu untuk mereaksikannya dilakukan di bawah aliran  $\text{N}_2$  untuk menghilangkan oksigen yang dapat menyebabkan reaksi oksidasi. Penggunaan dapar fosfat yang mengandung EDTA bertujuan untuk mencegah oksidasi

yang dikatalis logam dan memelihara kestabilan sulfhydryl karena jika tidak digunakan akan menyebabkan pengendapan pada protein. Untuk memurnikan hasil aktivasi DOTA-PAMAM G3-SH dilakukan dengan menggunakan kolom berisi Sephadex G-25M (1,2 x 15 cm) yang sudah diblok dengan 2 mL BSA 10% kemudian dikondisikan dengan dapar fosfat 0,05 M pH 7,4 mengandung EDTA 0,05M. Fraksi (50 fraksi, 0,5 mL/fraksi) ditampung dan masing-masingnya kemudian dicek dengan Biorad-dye (1:9).

Tidak seperti pada proses pemurnian 2-(4-isothiocyantobenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclodecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (p-SCN-BZ-DOTA-PAMAM G3-SH) yang dilakukan oleh Rien Ritawidya (2012) [7]. Fraksi hasil pemurnian DOTA-PAMAM G3-SH tidak menunjukkan perubahan warna dari warna coklat menjadi warna biru sewaktu diperlakukan dengan Biorad-dye (1:9). Pada Gambar. 2 memperlihatkan fraksi hasil pemurnian DOTA-PAMAM G3-SH (turunan NHS-DOTA) yang diperlakukan dengan Biorad-dye (1:9).



Gambar 2. Hasil uji kolorimetri (A) DOTA-PAMAM G3-SH dan (B) pSCN-DOTA dengan Biorad-dye (1:9)

Dari Gambar. 2 (B) dapat dilihat fraksi no.13 s/d 24 memberikan warna biru yang diasosiasikan dengan keberadaan p-SCN-DOTA-PAMAM G3-SH. Aktivasi DOTA-PAMAM (dengan menggunakan NHS-DOTA) dengan 2-iminothiolane dilakukan 2 kali percobaan. Tidak seperti p-SCN-DOTA-PAMAM G3-SH, fraksi hasil pemurnian DOTA-PAMAM G3-SH tidak memberikan warna biru bila diperlakukan Biorad-dye (1:9). Tidak berwarna fraksi-fraksi yang diasosiasikan DOTA-PAMAM G3-SH ini diperkirakan karena terbatasnya jumlah gugus  $-NH_2$  yang tersedia pada DOTA-PAMAM G3-SH. DOTA-PAMAM G3-SH disiapkan dengan mengkonjugasikan NHS-DOTA pada PAMAM G3 dengan mol rasio 96 : 1 atau 3 kali lebih banyak dari gugus  $-NH_2$  yang ada pada setiap molekul PAMAM G3 (32 gugus  $NH_2$ ). Oleh karena sebagian besar gugus  $-NH_2$  yang tersedia sudah diberikan dengan DOTA maka  $-NH_2$  yang tersedia untuk berikatan dengan Biorad-dye / Commassive Blue G-25 yang memberikan warna biru menjadi sangat terbatas. Sedangkan pada konjugasi p-SCN-DOTA pada PAMAM G3 mol ratio yang digunakan adalah 24 : 1 sehingga masih banyak gugus  $-NH_2$  pada PAMAM G3 (32 gugus  $-NH_2$ ) yang dapat berikatan dengan Biorad-dye yang memberikan warna biru. Oleh sebab itu pengumpulan fraksi-fraksi yang mengandung DOTA-PAMAM G3-SH mengacu pada fraksi-fraksi hasil proses pemurnian p-SCN-DOTA-PAMAM G3-SH.

Tahapan reaksi ketiga adalah melakukan aktivasi nimotuzumab dengan sulfo-SMCC. Sulfo-SMCC adalah reagen *heterobifunctional* yang populer karena memiliki struktur kimia dengan ujung ester NHS-SMCC yang dapat bereaksi dengan gugus amin primer nimotuzumab dengan membentuk ikatan amida yang stabil. Hasil reaksi samping (sulfo-NHS) dari reaksi substitusi tersebut dipisahkan dengan menggunakan kolom PD-10 (mengandung Sephadex G-25M) yang sudah diblok dengan 1 mL BSA 10% kemudian dikondisikan

dapar fosfat 0,05 M pH 7,4 mengandung EDTA 0,05 M. Fraksi (30 fraksi, 0,25 mL/fraksi) ditampung kemudian dilakukan pengecekan dengan Biorad-dye (1:9).

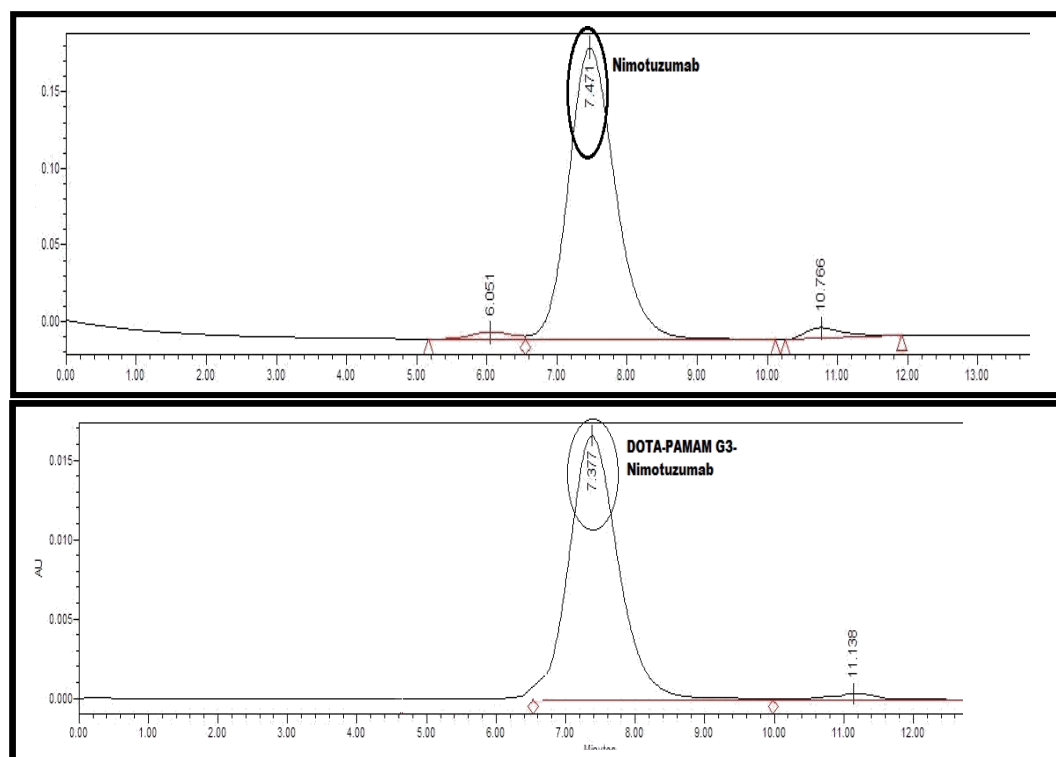
Sebelum DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dikarakterisasi maka perlu dimurnikan dengan kaset dialysis 20 KD MWCO di dalam dapar ammonium asetat 0,25 M (empat kali penggantian). Hasil pemurnian ini kemudian dikarakterisasi sebelum dilabel dengan  $^{177}Lu$ .

Karakterisasi DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dilakukan dengan menggunakan HPLC yang dilengkapi dengan kolom *size exclusion column* (SEC). Kromatogram yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan nimotuzumab yang juga dilewatkan dengan sistem yang sama.

Kromatogram nimotuzumab dan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab menggunakan KCKT yang dilengkapi dengan SEC ditunjukkan berturut-turut pada Gambar.3 (A) dan (B). Kromatogram nimotuzumab Gambar. 3(A) menunjukkan adanya tiga puncak dengan puncak yang tertinggi dengan waktu retensi ( $t_R$ ) 7,471 menit (Nimotuzumab) dan dua puncak kecil lainnya dengan waktu retensi 6,051 dan 10,766 menit yang diperkirakan excipient sediaan Nimotuzumab atau TheraCIM (nama dagang untuk Nimotuzumab).

Kromatogram DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab (Gambar.3(B)) menunjukkan adanya dua puncak dengan puncak tertinggi dengan  $t_R$  7,377 menit yang merupakan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dan puncak kecil dengan  $t_R$  11,138 menit yang diperkirakan hasil samping reaksi yang masih tersisa. Dan nilai  $t_R$  yang ditunjukkan kedua kromatogram diatas dapat dilihat nilai  $t_R$  DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab (7,377 menit) lebih kecil dari nilai  $t_R$  Nimotuzumab (7,471 menit). Hal ini mengindikasikan bahwa ada penambahan berat molekul Nimotuzumab yang telah dikonjugasikan dengan DOTA-PAMAM G3 atau indikator keberadaan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab.



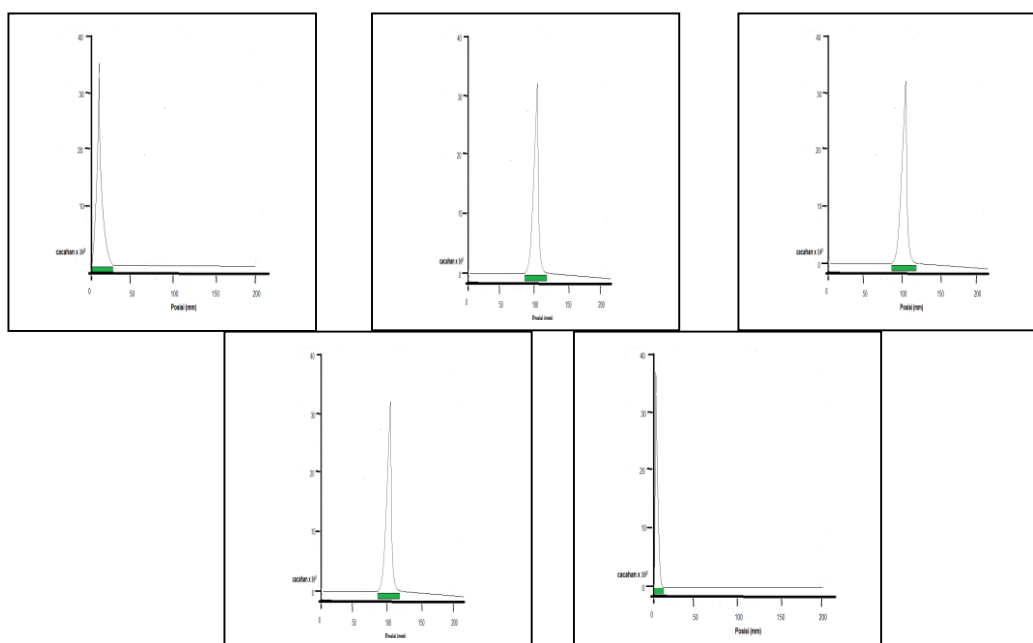


Gambar 3. Kromatogram (A) Nimotuzumab dan (B) DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab

Penandaan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab dengan  $^{177}\text{Lu}$  dilakukan dengan menambahkan  $^{177}\text{Lu}$  yang telah dikondisikan dengan larutan ammonium asetat 0,25 M. Titis et al (2010) melaporkan keberhasilan penandaan  $^{177}\text{Lu}$  pada DOTA-Nimotuzumab dapat dideteksi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan *Instant Thin Layer Chromatography-Silica Gel* (ITLC-SG) sebagai fase diam dan larutan salin sebagai fase gerak. Strip yang sudah ditotoli sampel dan sudah dielusi kemudian dicacah dengan Thin Layer Chromatography Scanner (TLC-Scanner). Sistem Bioscan pada TLC-Scanner melakukan penghitungan digital langsung dari energi yang dipancarkan oleh radioisotop termasuk energi partikel  $\beta$  yang dipancarkan oleh pemancar positron tanpa perlu bertukar detector. Dengan dua sistem diatas hasil penandaan  $^{177}\text{Lu}$  pada DOTA-Nimotuzumab yang dideteksi dengan baik. Gambar.4 memperlihatkan posisi molekul-molekul yang ada dalam proses penandaan  $^{177}\text{Lu}$  pada DOTA-PAMAMA G3-Nimotuzumab yang dideteksi dengan TLC-Scanner. Dari Gambar 4 dapat dilihat  $^{177}\text{Lu}$  bebas (tanpa EDTA) dan  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-

PAMAM G3-Nimotuzumab memberikan  $R_f = 0$  karena tingginya afinitas mereka terhadap gel silica pada plat ITLC, sedangkan  $^{177}\text{Lu}$ -EDTA memberikan  $R_f = 1,0$  karena afinitasnya yang rendah pada plat ITLC-SG. Untuk mendeteksi penandaan  $^{177}\text{Lu}$  pada DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab diadopsi metoda yang dilaporkan Titis et al (2010) Hasil uji *spesifik non binding*  $^{177}\text{Lu}$ +EDTA, DOTA-PAMAM G3+ $^{177}\text{Lu}$ +EDTA, Nimotuzumab+ $^{177}\text{Lu}$ +EDTA, dan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab+ $^{177}\text{Lu}$ +EDTA (mol ratio Lu : EDTA = 20:1) diperlihatkan pada Gambar 4.

Radiokromatogram tersebut menunjukkan  $^{177}\text{Lu}$ +EDTA, DOTA-PAMAM G3+ $^{177}\text{Lu}$ +EDTA, Nimotuzumab +  $^{177}\text{Lu}$  + EDTA mempunyai  $R_f$  yang sama yaitu 1. Gambar 4.(B) (C) Ini menunjukkan spesi  $^{177}\text{Lu}$ -EDTA dan  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3 mempunyai afinitas yang rendah terhadap ITLC-SG. Sementara itu radiokromatogram pada Gambar 4.(A) menunjukkan  $R_f \leq 1$  ( $\sim 0$ , daerah dimana contoh ditotolkan) untuk  $^{177}\text{Lu}$  saja tanpa EDTA. Ini mengindikasikan bahwa  $^{177}\text{Lu}$  bebas tanpa EDTA memiliki afinitas yang kuat pada plat ITLC-SG



Gambar 4. Radiokromatogram (A)  $^{177}\text{Lu}$  bebas, (B)  $^{177}\text{Lu}$ -EDTA, (C)  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3, (D)  $^{177}\text{Lu}$ -nimotuzumab (D)  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab

Dengan melihat beberapa hasil karakterisasi baik menggunakan HPLC-SE dan TLC scanner hasil kompleks  $^{177}\text{Lu}$ -

DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab telah berhasil kita sintesis membentuk suatu radioimunokonjugat.

## KESIMPULAN

Radioimunokonjugat  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab telah berhasil disintesis. Karakterisasi dengan HPLC-SEC telah menunjukkan perbedaan tR dari masing-masing kompleks yaitu nimotuzumab 7,471 menit dan DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab 7,377 menit ini memiliki makna adanya penambahan berat molekul

yang signifikan. Karakterisasi kedua penandaan konjugat dengan  $^{177}\text{Lu}$  dan dimonitor dengan *TLC-scanner*. Radioimunokonjugat  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-PAMAM G3-Nimotuzumab memiliki Rf  $R_f < 1$  ( $\sim 0$ ).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Cecep Rustendi dan M. Subur yang telah membantu menyiapkan proses radioisotope  $^{177}\text{Lu}$  dan kepada semua pihak yang telah memberikan saran, motivasi

dan dukungan baik materil maupun non materil, sehingga kami dapat menyelesaikan penulisan karya tulis ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Chauhan, Subhash. (2005). Pharmacokinetics And Biodistribution Of  $^{177}\text{Lu}$ -Labeled Multivalent Single-Chain Fv Construct Of The Pancacircoma Monoclonal Antibody CC49. *European Journal Of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. Vol. 32, No. 3, March 2005.
2. Crombet, Tania., Javier. Solomon., Toledo. Carolina. (2008). Use the humanized anti-EGFR mAb (nimotuzumab) and irradiation for the treatment of high grade glioman patients. *YM Bioscience*
3. Kadarisman, Sunarhadjoso Soenarjo, Herlina, dan Sriyono. (2011). Pemisahan Radioisotop Medis Lu-177 Dari Matrik Yb-Lu Paska Iradiasi Melalui Resin Penukar Ion dengan Eluen  $\alpha$ -HIBA dan Larutan  $\text{HNO}_3$ . *ISSN : 2087-9652*
4. Humani, Titis Sekar, Martalena, Cecep Taufik Rustendi, M. Subur, (2010). *Preparasi dan Uji Stabilitas  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA-Nimotuzumab Sebagai Radiofarmaka Terapi Kanker*. Seminar Nasional VI SDM Tenaga Nuklir Yogyakarta, 18 November 2010.
5. Hermanson, Greg T. (2008). *Bioconjugate Techniques*. Elsevier. 2<sup>nd</sup> Edition. USA

## EVALUASI PENGELOLAAN OBAT DAN STRATEGI PERBAIKAN DENGAN METODE HANLON DI INSTALASI FARMASI RUMAH SAKIT UMUM DAERAH KAREL SADSUITUBUN KABUPATEN MALUKU TENGGARA TAHUN 2012

Wirdah Wati R.,<sup>1</sup> Achmad Fudholi,<sup>2</sup> Gunawan Pamudji W.,<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Pasca Sarjana. Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi

<sup>2</sup>Program Pasca Sarjana. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada

### ABSTRAK

Pengelolaan obat merupakan suatu siklus manajemen obat yang meliputi empat tahap yaitu seleksi, perencanaan dan pengadaan, distribusi dan penggunaan, Pengelolaan obat dilakukan oleh Instalasi Farmasi Rumah Sakit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengelolaan obat di Instalasi Farmasi RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara dengan menggunakan indikator efisiensi dan dilakukan strategi perbaikan dengan metode Hanlon. Penelitian menggunakan rancangan diskriptif untuk data tahun 2012 yang bersifat *retrospektif* dan *concurrent*. Data dikumpulkan berupa data kuantitatif dan kualitatif dari pengamatan dokumen serta wawancara dengan petugas IFRS terkait. Seluruh tahap pengelolaan obat di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara diukur tingkat efisiensi menggunakan indikator DepKes dan WHO, kemudian dibandingkan dengan standar atau hasil penelitian lainnya dan selanjutnya diolah serta deskripsikan berdasarkan analisis prioritas rencana tindakan dengan Metode Hanlon. Hasil penelitian didapatkan sistem pengelolaan obat yang sesuai standar sebagai berikut : kesesuaian DOEN (77,56%), persentase modal/dana (100%), kecocokan kartu *stock* obat (100%), rata-rata waktu melayani resep, resep obat generik (96,52%), persentase label obat (100%). Tahapan yang belum sesuai standar yaitu : kesesuaian perencanaan obat dengan kenyataan (72,73%), persentase alokasi dana (6,51%), frekuensi pengadaan tiap item obat 1 kali sedangkan menurut EOQ 2 kali, nilai ITOR (5,77 kali), tingkat ketersediaan obat (11,47 bulan), persentase nilai obat kadaluwarsa/rusak (2,21%), persentase *stock* mati (5%), jumlah item obat tiap lembar resep (3,23), persentase resep yang tidak terlayani (13,84%). Prioritas penanganan masalah sebagai berikut : 1) membentuk Panitia Farmasi dan Terapi (PFT) dan menyusun formularium, serta melakukan monitoring dan evaluasi pengelolaan obat 2) mengusulkan kenaikan anggaran, 3) melakukan analisis ABC-VEN, 4) mengintegrasikan SOP tentang perbekalan farmasi, 5) menerapkan Sistem Informasi Manajemen (SIM) pengelolaan obat.

**Kata kunci:** pengelolaan obat, indikator efisiensi, Instalasi Farmasi RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara, metode Hanlon

### PENDAHULUAN

Pembangunan kesehatan merupakan investasi dalam meningkatkan kualitas sumber daya manusia. Pembangunan kesehatan yang dilaksanakan secara berkesinambungan dalam tiga dekade terakhir telah berhasil meningkatkan derajat kesehatan masyarakat secara bermakna. Salah satu upaya mewujudkan peningkatan kesehatan masyarakat yaitu peningkatan pelayanan di rumah sakit. Pelayanan rumah

sakit tidak dipisahkan dengan pelayanan kefarmasian. Pelayanan farmasi rumah sakit merupakan salah satu kegiatan rumah sakit yang menunjang pelayanan kesehatan yang bermutu.

Instalasi farmasi rumah sakit merupakan satu-satunya unit di rumah sakit bertanggung jawab pada penggunaan obat yang aman dan efektif di rumah sakit secara keseluruhan. Tanggung jawab ini termasuk

seleksi, pengadaan, penyimpanan, penyiapan obat untuk konsumsi dan distribusi obat ke unit perawatan penderita (Siregar dan Amalia, 2003). Manajemen obat di rumah sakit merupakan salah satu aspek penting dari rumah sakit. Ketidakefisienan akan memberikan dampak negatif terhadap biaya operasional bagi rumah sakit, karena bahan logistik obat merupakan salah satu tempat kebocoran anggaran. Untuk itu manajemen obat dapat dipakai sebagai proses penggerak dan pemberdayaan semua sumber daya yang dimiliki untuk dimanfaatkan dalam rangka mewujudkan ketersediaan obat setiap dibutuhkan agar operasional efektif dan efisien (Lilihata, 2011).

IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara merupakan suatu institusi yang turut melaksanakan upaya perbaikan dalam rangka meningkatkan pelayanan kesehatan kepada masyarakat. Secara umum masalah yang ditemukan di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara adalah 1). dalam proses pengadaan obat yang dilakukan sekali dalam setahun belum bisa memenuhi ketersediaan obat karena masalah kekosongan obat, 2). tidak adanya formularium rumah sakit

sebagai pedoman dalam pelaksanaan pengobatan sehingga sangat mempengaruhi proses seleksi obat dan juga pola persepsian yang dilakukan. 3) belum terintegrasinya prosedur operasi standar (*Standard Operating Prosedure-SOP*) tentang perbekalan farmasi. 4). belum terbentuknya panitia farmasi dan terapi. Mengingat mutu pengembangan pelayanan masyarakat dan begitu banyaknya permasalahan-permasalahan yang terdapat dalam pengelolaan obat di rumah sakit maka perlu dilakukan perbaikan-perbaikan manajemen pengelolaan obat dengan menggunakan metode Hanlon. Metode ini merupakan alat yang digunakan untuk membandingkan berbagai masalah kesehatan yang berbeda-beda dengan cara *relative* dan bukan *absolut*, *framework*, seadil mungkin dan obyektif.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi manajemen pengelolaan obat di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara yang meliputi tahap seleksi, pengadaan, distribusi dan penggunaan dan mengetahui cara perbaikan pengelolaan obat dengan menggunakan metode Hanlon.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian adalah diskriptif untuk mengevaluasi pengelolaan obat di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara tahun 2012. Data ini dapat berupa data primer dan sekunder. Data primer didapatkan dengan observasi langsung serta melakukan wawancara pada saat penelitian dilaksanakan. Data sekunder dilakukan dengan melihat dan menelusuri dokumen-dokumen tahun sebelumnya yaitu tahun 2012 antara lain laporan perencanaan dan pemakaian obat, laporan keuangan, laporan pengadaan obat, laporan *stock opname*, laporan pemusnahan obat rusak dan kadaluwarsa yang kemudian dapat mempertajam evaluasi pengelolaan obat di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara pada tahun 2012, dan

kemudian dilakukan strategi perbaikan dengan menggunakan metode Hanlon. Data primer dan sekunder yang dikumpulkan berupa data kualitatif yang bersifat *retrospektif* dan *concurent* dan kuantitatif.

Data *concurent* adalah data yang diperoleh pada saat penelitian atau merupakan data primer yaitu diambil pada bulan Juni 2013 yang meliputi rata-rata waktu pelayanan resep, kartu *stock*/komputer, persentase obat yang dilabeli dengan benar dan wawancara dengan petugas terkait.

### Perbaikan Manajemen dengan Metode Hanlon:

- a. Mengidentifikasi masalah dan solusi manajemen obat yang terdiri atas seleksi,

perencanaan, pengadaan, penyimpanan, distribusi dan penggunaan.

- b. Memberikan skor (bobot) atas serangkaian kriteria A, B, C dan D (PEARL).
- c. Setelah serangkaian kriteria tersebut berhasil diisi, maka selanjutnya menghitung nilai *Basic Priority Rating* (BPR) dan *Overall Priority Rating* (OPR) dengan rumus sebagai berikut :

BPR (*Basic Priority Rating*) =

$$(A + B) C/3$$

OPR (*Overall Priority Rating*) =

$$[(A + B) C/3] \times D$$

Keterangan :

A = skor 0 – 10 ( kecil – besar )

B = skor 0 – 10 ( tidak serius – sangat serius )

C = skor 0 – 10 ( sulit – mudah )

D = skor 0 ( ya ) dan 1 ( tidak )

- a. Skor dengan nilai *Overall Priority Rating* (OPR) tertinggi adalah prioritas pertama penanganan masalah.
- b. Penilaian untuk A (besar permasalahan), B (kegawatan masalah), C (kemudahan masalah).
- c. Untuk pemberian point dari nilai 0-10 dilakukan wawancara mendalam kepada kepala IFRS, menentukan nilai 0-10 setelah dilakukan analisis terhadap seleksi, pengadaan, distribusi, dan penggunaan .
- d. Pemberian skor 0-10 ditentukan oleh peneliti berdasarkan hasil wawancara dan

diskusi mendalam dengan kepala IFRS dan mendapatkan persetujuan terhadap angka yang akan diberikan oleh setiap permasalahan yang terjadi.

### Analisis Data

Analisis data penelitian ini menggunakan indikator seleksi, perencanaan, pengadaan, pendistribusian dan penyimpanan serta penggunaan obat adalah sebagai berikut:

1. Evaluasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah pada proses pengelolaan obat untuk menilai sistem pengelolaan obat dan memperoleh informasi tentang keberhasilan pencapaian tujuan kegiatan dan hasilnya.
2. Dihitung nilai masing-masing indikator yang diteliti sesuai dengan tahapan yang disajikan dalam bentuk tabel.
3. Nilai yang telah diperoleh tersebut selanjutnya dibandingkan dengan nilai standar (Depkes RI, 2002) yang ada.
4. Data kualitatif yang diperoleh melalui wawancara disajikan secara tekstual dalam kalimat diskriptif terutama evaluasi mengenai sistem pendukung yang terkait.
5. Dilakukan perbaikan dalam manajemen pengelolaan obat dengan menggunakan metode Hanlon sehingga dapat memberikan rekomendasi kepada rumah sakit dalam melakukan pengelolaan obat.

## HASIL DAN DISKUSI

### Tahap Seleksi

Penentuan seleksi obat merupakan peran aktif apoteker dalam Panitia Farmasi dan Terapi (PFT) untuk menetapkan kualitas dan efektifitas serta jaminan obat yang baik. Adapun salah satu fungsinya yaitu mengembangkan formularium rumah sakit dan merevisinya. Dan juga membantu instalasi farmasi dalam mengembangkan tinjauan terhadap kebijakan-kebijakan dan peraturan-peraturan mengenai penggunaan obat di rumah sakit sesuai peraturan yang

berlaku secara lokal maupun nasional (DepKes, 2004).

Ketersediaan obat yang ada dalam daftar DOEN tahun 2012 adalah 77,56%. Dari hasil persen kesesuaian obat yang tersedia sudah sesuai dengan standar yang ditetapkan yaitu 76% (DepKes 2002). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kepatuhan penggunaan obat essensial sudah sesuai dengan standar.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Fakhriadi *et al.* (2011) di Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Temanggung

menyebutkan persentase kesesuaian obat dengan DOEN 2005 pada tahun 2006, 2007 dan 2008 berturut-turut adalah 15,69%, 17,40% dan 19,10% menunjukkan belum efisien dalam penggunaan obat esensial dalam pelayanan kesehatan, sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Satriyani (2012) di IFRSUD Pandan Arang Boyolali menyebutkan persentase kesesuaian obat dengan DOEN adalah 22,31%. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan obat esensial dalam DOEN sudah sesuai dengan standar yang ditetapkan.

#### **Tahap Perencanaan dan Pengadaan**

**Persentase modal/dana yang tersedia dengan keseluruhan dana yang dibutuhkan.** Perencanaan obat yang dilakukan di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara menggunakan dana APBD yang mana dana obat tersebut telah dianggarkan oleh Pemerintah Daerah Kabupaten Maluku Tenggara. Persentase modal/dana yang tersedia jika dibandingkan dengan keseluruhan dana yang dibutuhkan pada tahun 2012 tercukupi sampai 100%. Hal ini sesuai dengan indikator Pudjaningsih (1996) yaitu nilai standar terhadap persentase modal dana yang tersedia dengan kebutuhan dana yang dibutuhkan yaitu sebesar 100%,

**Persentase alokasi dana pengadaan obat.** Anggaran yang disediakan untuk pengadaan obat hanya sebesar 6,51% dari keseluruhan anggaran rumah sakit. Yang mana nilai persentase ini sangat kecil bila dibandingkan dengan nilai standar yaitu berkisar antara 30-40%. Hal ini menandakan bahwa kebutuhan persentase alokasi dana pengadaan obat di RSUD Karel Sadsuitubun belum memenuhi standar yang disebabkan karena nilai anggaran untuk pengadaan obat telah ditetapkan dalam anggaran oleh pemerintah daerah melalui APBD sehingga tidak dapat dimungkinkan untuk dilakukan penambahan anggaran.

**Persentase kesesuaian antara perencanaan obat dengan kenyataan pakai untuk masing-masing obat.** Persentase jumlah item obat yang direncanakan sebesar 72,73%. Hal ini terlihat

bahwa pemakaian item obat masih di bawah standar yang seharusnya yaitu 100%, sehingga dapat dikatakan bahwa jumlah item obat yang dipakai belum efisien. Hal ini disebabkan karena belum optimalnya perencanaan dan dana yang disediakan oleh rumah sakit terlalu rendah sehingga menyebabkan item obat yang tersedia jadi kecil padahal kebutuhan obat yang riilnya sangat besar. Upaya yang perlu dilakukan agar dana yang tersedia benar-benar digunakan untuk memenuhi semua kebutuhan rumah sakit adalah melakukan perencanaan dengan selektif yang mengacu pada prinsip efektif, aman, ekonomis, rasional dan diadakan koreksi dengan metode ABC dan VEN (Quick *et al*, 1997).

**Frekuensi pengadaan tiap item obat.** Rata-rata frekuensi pengadaan obat secara kenyataan adalah 1 kali dalam setahun (frekuensi rendah) jika dibandingkan dengan metode EOQ (*Economic Order Quantity*) adalah berkisar 2 kali dalam setahun. Ketika frekuensi pengadaan dapat ditingkatkan dengan metode EOQ dapat menurunkan biaya penyimpanan dan resiko kerusakan/kadaluwarsa, walaupun biaya pemesanan meningkat tetapi dapat melakukan efisiensi biaya yang besar.

#### **Tahap Distribusi**

**Kecocokan antara obat dengan kartu stock.** Dari 120 item jumlah fisik obat yang tersedia di gudang sudah sesuai dengan 120 sampel obat yang diambil dengan kartu stock. Menurut WHO (1993) bahwa kecocokan antara stock gudang dengan kondisi fisik adalah 100%, ini menandakan bahwa administrasi di gudang farmasi sudah dikerjakan dengan baik dan optimal. Keadaan ini kemungkinan karena adanya mekanisme bagi setiap pegawai untuk melakukan kontrol kesesuaian obat dengan kartu stock setiap hari atau minimal melakukan kontrol setiap barang datang maupun keluar.

**Inventory Turn Over Ratio.** Menurut Pudjaningsih (1996) standar ITOR untuk rumah sakit adalah 8-12 kali setahun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai TOR

IFSRUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara adalah 5,77 kali dan menurut Pudjaningsih indikator ITOR (*Inventory Turn Over Ratio*) adalah sebanyak 8-12 kali. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya *stock* mati yang mana adanya *stock* mati yang sangat besar mempengaruhi nilai persediaan, belum adanya Panitia Farmasi dan Terapi sehingga proses perencanaan dan pengadaan obat yang dilakukan tidak menggunakan acuan atau pedoman, selain itu juga sistem pengadaan obat melalui proses tender, kecukupan dana untuk obat yang sangat rendah.

**Tingkat ketersediaan obat.** Pengukuran Indikator tingkat ketersediaan obat di instalasi farmasi menunjukkan bahwa rata-rata tingkat ketersediaan obat di IFSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara adalah 11,47 bulan, ini berarti IFSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara belum memenuhi standar keefisienan tingkat ketersediaan obat dimana standar untuk kebutuhan persediaan obat menurut Andayaningsih (1996) yaitu antara 12-18 bulan.

**Rata-rata waktu yang digunakan untuk melayani resep sampai ke tangan pasien.** Pengukuran waktu pelayanan dibagi menjadi 3 tahap waktu pelayanan yaitu dari pkl 08.00-10.00, 10.00-12.00 dan 12.00-14.00. Pada tahap pertama yaitu pkl 08.00 sampai pkl 10.00 rata-rata waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan resep obat non racikan untuk sampai ke tangan pasien adalah 5 menit sedangkan untuk resep obat racikan yaitu 13 menit. Untuk tahap kedua yaitu pkl 10.00 sampai 12.00 rata-rata waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan resep obat non racikan untuk sampai ke tangan pasien adalah 6 menit sedangkan untuk resep obat racikan yaitu 17 menit. Sedangkan pada tahap ketiga yaitu pkl 12.00 sampai 14.00 rata-rata waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan resep obat non racikan untuk sampai ke tangan pasien adalah 5 menit sedangkan untuk resep obat racikan yaitu 11 menit. Dari ketiga tahapan rata-rata lama waktu tunggu obat non racikan dengan rata-

rata obat racikan telah memenuhi syarat indikator yang ada, sehingga dapat dikatakan bahwa rata-rata lama waktu yang digunakan di Apotek IFSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara telah maksimal dan memenuhi standar.

**Persentase nilai obat yang kadaluwarsa dan rusak.** Persentase nilai obat kadaluwarsa di instalasi farmasi adalah 2,21%. Hal ini menandakan seberapa besar kerugian yang dialami oleh rumah sakit, dalam persentase yang sebenarnya menurut Pudjaningsih (1996) seharusnya tidak ada obat yang rusak atau kadaluarsa (0%).

**Persentase *stock* mati.** Obat yang mengalami *stock* mati sebanyak 8 item obat dari 165 item obat yang digunakan dan jika di persentasikan sebesar 4,85%. Hal ini bisa terjadi disebabkan karena pola peresepan yang berubah karena belum dibentuknya PFT yang menyebabkan belum dibuatnya formularium rumah sakit yang menjadi pedoman bagi semua staf medik di rumah sakit dalam melakukan pelayanan. Hasil yang diperoleh melebihi standar menurut Pudjaningsih (1996) yaitu 0%.

#### **Tahap Penggunaan**

**Jumlah item obat tiap lembar resep.** Rata-rata jumlah item obat per tiap lembar resep di tulis oleh dokter di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara adalah 3,23 macam item obat. Menurut WHO (1993) rata-rata jumlah penulisan item obat tiap lembar resep adalah 2 item per lembar resep.

**Persentase penulisan resep generik.** Persentase penulisan resep generik di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara adalah 96,52%. Hal ini memperlihatkan bahwa penulisan obat generik di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara sudah sesuai dengan standar yang ditetapkan yaitu 85%.

**Persentase resep yang tidak terlayani.** Persentase resep yang tidak dilayani di apotek rumah sakit selama tahun 2012 adalah 13,84% dari jumlah semua total resep.

**Persentase obat yang dilabeli dengan benar.** Presentase obat yang dilabeli



dengan benar adalah 100% yang berarti bahwa nilai tersebut sudah memenuhi standar yang ditetapkan yaitu 100% dan menandakan staf di apotek telah melabeli etiket secara benar. Hal ini dikarekan sebelum obat diserahkan kepada pasien selalu dilakukan

pengecekan oleh apoteker maupun staf sehingga kesalahan pelabelan pada etiket dapat diminimalkan.

Hasil perhitungan masing-masing indikator ditunjukkan pada tabel 1 dibawah ini:

**Tabel 1. Hasil perhitungan indikator pengelolaan obat**

<b>Tahap Seleksi</b>			
<b>Kesesuaian item obat yang tersedia dengan DOEN</b>			
	Jumlah item obat yang tersedia di IFRS		165
	Jumlah item obat yang tersedia di IFRS yang masuk dalam DOEN		128
	% kesesuaian item obat yang tersedia dalam DOEN		77,56%
<b>Tahap Perencanaan dan Pengadaan</b>			
<b>Persentase modal/dana yang tersedia dengan keseluruhan dana yang dibutuhkan.</b>			
	Jumlah dana yang dibutuhkan (Rp)		1.094.043.046
	Jumlah dana yang tersedia (Rp)		1.094.043.046
	% alokasi dana yang tersedia		100%
<b>Persentase alokasi dana pengadaan obat</b>			
	Anggaran obat (Rp)		1.094.043.046
	Anggaran rumah sakit (Rp)		16.800.274.430
	% alokasi dana pengadaan obat		6,51%
<b>Persentase kesesuaian antara perencanaan obat dengan kenyataan pakai untuk masing-masing item obat</b>			
	Jumlah item obat kenyataan pakai		165
	Jumlah item obat dalam perencanaan		120
	% jumlah item yang digunakan		72,73%
<b>Frekuensi pengadaan tiap item obat tahun 2012.</b>			
	Rata-rata frekuensi kenyataan pengadaan (FK)		1
	Rata-rata frekuensi pengadaan secara EOQ (FQ)		2
<b>Perbandingan biaya yang digunakan secara nyata dan secara EOQ</b>			
	Total biaya order kenyataan (FK)		4.347.585,00
	Total biaya penyimpanan kenyataan (FK)		59.168.934,94
	Total biaya		63.516.519,94
	Total biaya order FQ		8.820.739,96
	Total biaya penyimpanan menurut EOQ (FQ)		17.641.479,91
	Total biaya		26.462.219,87
	Selisih biaya yang digunakan secara kenyataan dan EOQ		37.054.300,07
<b>Tahap Distribusi</b>			
<b>Kecocokan antara obat dengan kartu stock</b>			
	Jumlah obat sesuai catatan		120
	Jumlah obat sesuai fisik		120
	% kecocokan obat antara fisik dengan catatan		100%
<b>Inventory Turn Over Ratio</b>			
	Inventory Turn Over Ratio		5,77
<b>Tingkat Ketersediaan obat di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara</b>			
	Rata-rata tingkat ketersediaan obat (bulan)		11,47
<b>Rata-rata waktu yang digunakan untuk melayani resep sampai ke tangan pasien</b>			
Resep	I		5
non racikan	II		6
	III		5
Resep racikan	I		13
	II		17
	III		11
<b>Persentase nilai obat kadaluwarsa dan rusak</b>			
	Nilai obat kadaluwarsa		12.307.680,00
	Nilai Stock opname akhir tahun 2012		557.786.544,04
	% nilai obat kadaluarsa		2,21%
<b>Persentase obat stock mati</b>			
	Jumlah stock mati		8
	Jumlah obat dengan stock		165
	% obat stock mati		4,85%
<b>Tahap Penggunaan</b>			
<b>Jumlah item obat tiap lembar resep.</b>			
	Jumlah lembar resep		40.103
	Jumlah resep		127.409
	Rata-rata jumlah item obat tiap lembar resep		3,23
<b>Persentase penulisan resep obat generik</b>			
	Jumlah resep obat generik		122922

	Jumlah resep total	127409
	% penulisan resep obat generik	96,52%
<b>Persentase resep yang tidak terlayani</b>		
	Jumlah resep total	127409
	Jumlah resep yang terlayani	109773
	Jumlah resep yang tidak terlayani	17636
	% item obat yang tidak dilayani	13,84%
<b>Persentase obat yang dilabeli dengan benar</b>		
	Jumlah etiket obat	1230
	Jumlah etiket obat yang dilabeli dengan benar	1230
	% etiket obat yang di labeli dengan benar	100%

#### **D. Kerangka Usulan Perbaikan dengan metode Hanlon**

Berdasarkan observasi dan wawancara mendalam yang dilakukan oleh peneliti dengan beberapa informan terhadap proses pengelolaan obat di Instalasi Farmasi RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara, ditemukan beberapa masalah pengelolaan obat yang sangat mendesak guna menunjang pelayanan rumah sakit.

Oleh karena itu peneliti mengusulkan beberapa upaya perbaikan manajemen

pengelolaan di RSUD Kabupaten Maluku Tenggara. Usulan kerangka upaya perbaikan manajemen obat yang disusun berdasarkan identifikasi masalah dan solusi yang dapat dilakukan manajemen rumah sakit untuk mengatasi masalah tersebut, hal ini dapat dilihat pada tabel 1. Agar mendapatkan hasil yang baik perlu adanya prioritas masalah, maka dilakukan pembobotan dengan metode Hanlon, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 2. Masalah dan solusi Manajemen Pengelolaan Obat di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara.

Tahapan	Masalah	Solusi
A. Seleksi	Belum adanya formularium RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara.	Membentuk PFT dan menyusun formularium rumah sakit dan fungsi PFT di dalam memilih obat yang memenuhi standar <i>efficacy</i> , <i>safety</i> , sebagai kriteria dalam seleksi obat
B. Perencanaan	B.1 Sisa persediaan dan dana pengadaan periode lalu seringkali tidak dijadikan sebagai dasar perencanaan	Menggunakan data sisa persediaan dan data penggunaan periode lalu sebagai dasar perencanaan
	B.2 Pola prevalensi penyakit yang selalu berubah.	Menggunakan 10 penyakit teratas di dalam proses seleksi dan perencanaan.
	B.3 Presentase perencanaan dengan kenyataan masih berkisar 72,73%	Melakukan perencanaan obat dengan selektif yang mengacu pada prinsip efektif, aman, ekonomis dan rasional dan diadakan koreksi dengan metode ABC-VEN
C. Pengadaan	C.1 alokasi dana pengadaan yang telah ditetapkan oleh pemerintah daerah masih sangat kurang.	Perlu adanya pengusulan kenaikan anggaran pengadaan obat kepada Pemerintah Daerah dan DPRD Kabupaten Maluku Tenggara supaya ketersediaan obat dapat terpenuhi.
	C.2 Proses pengadaan tidak dilakukan oleh instalasi farmasi tetapi penunjukkan panitia pengadaan oleh pemerintah daerah	Memberikan masukan berbasis data kepada pemerintah daerah untuk melibatkan IFRS dalam proses pengadaan sehingga proses pengelolaan obat menjadi bagian integral dan obat akan menjadi produk terapeutik dan bukan barang (komoditas bisnis).
	C.3 perlu dilakukan pengadaan langsung secara berkala sehingga ketersediaan obat dapat terjamin.	Harus memilih <i>supplier</i> secara selektif (pabrik, distributor) yang memenuhi aspek mutu produk yang terjamin, aspek legal dan harga murah.
	C.4 sering terlambatnya barang datang dan terjadi kekosongan obat	Melakukan koordinasi rutin kepada <i>supplier/</i> distributor dan kerjasama dengan beberapa apotek di luar RSUD dalam penyediaan obat-obatan <i>cito</i> .
	C.5 prosedur tetap dan waktu pengadaan obat melalui pembelian langsung belum berjalan secara konsisten.	Menetapkan SOP dan waktu pengadaan obat melalui pembelian langsung.
D. Penyimpanan	D.1 rendahnya nilai ITOR yang menyebabkan menumpuknya <i>stock</i> obat.	Mengendalikan jumlah persediaan, menyediakan data persediaan dan dukungan SIM berbasis IT
	D.2 Masih besarnya persentase obat kadaluwarsa.	Pendataan obat-obatan yang mendekati tanggal kadaluwarsa.
	D.3 Masih kurangnya tenaga terlatih di dalam pengelolaan <i>inventory</i> .	Mengadakan/ mengikutsertakan tenaga instalasi farmasi di dalam kegiatan pelatihan mengenai <i>inventory control management</i>
	D.4 belum terintegrasinya SOP tentang perbekalan farmasi sehingga belum dapat dicapai monitoring dan evaluasi atas pelaksanaan kegiatan penerimaan.	Melaksanakan kebijakan farmasi satu pintu serta mengusulkan kepada pihak manajemen rumah sakit agar mengintegrasikan SOP tentang perbekalan farmasi.
	D.5 masih adanya item obat yang tidak digunakan selama 3 bulan berturut-turut	Pemantauan dan pengawasan terhadap <i>stock</i> setiap bulan agar dapat diketahui adanya obat yang merupakan <i>stock</i> mati.
E. Distribusi	E.1 pengendalian sistem distribusi perbekalan farmasi yang belum berfungsi secara optimal	Mengembangkan SOP distribusi perbekalan farmasi selain itu perlu adanya penggunaan SIM dalam mengawasi dan mengendalikan distribusi perbekalan farmasi sehingga dapat berjalan optimal.
	E.2 belum dilakukannya evaluasi dan monitoring secara berkala terhadap sistem distribusi obat.	Membentuk PFT dan memberdayakannya dalam rangka evaluasi dan monitoring terhadap pengelolaan obat di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara.
	E.3 masih rendahnya tingkat ketersediaan obat	Mengevaluasi dan melakukan sistem perencanaan dan pengadaan obat dengan selektif disesuaikan dengan kebutuhan rumah sakit serta mengacu pada prinsip efektif, aman, ekonomis dan rasional.
F. Penggunaan	F.1 masih besarnya item obat per lembar resep	Peran PIO dalam memberikan informasi obat sehingga peresepan obat lebih rasional, efektif dan efisien.
	F.2 Belum dilakukan monitoring dan evaluasi secara berkala terhadap penggunaan obat	Memberdayakan PFT dalam rangka evaluasi dan monitoring terhadap penggunaan obat di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara.
	F.3 masih banyaknya item obat yang tidak terlayani di unit pelayanan farmasi (apotek)	Perlu adanya SIM di dalam mengawasi dan menjamin kualitas obat dari kondisi <i>stock</i> sehingga terhindar dari kerusakan, kehilangan, kekurangan dan kelebihan.

Dari metode Hanlon diperoleh skala prioritas yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah di tiap tahapan manajemen pengelolaan obat sebagai berikut:

1. Membentuk PFT untuk menyusun formularium dan fungsi PFT didalam memilih obat yang memenuhi standar *efficacy*, *safety* serta berbagai kriteria dalam seleksi obat.
2. Memberikan masukan berbasis data kepada pemerintah daerah untuk melibatkan IFRS dalam proses pengadaan sehingga proses pengadaan obat menjadi bagian integral dan obat akan menjadi produk terapeutik dan bukan barang (komoditas bisnis).
3. Perlu adanya pengusulan kenaikan anggaran pengadaan obat kepada pemerintah daerah dan DPRD Kabupaten Maluku Tenggara supaya ketersediaan obat dapat terpenuhi
4. Menggunakan data sisa persediaan tahun lalu dan data penggunaan periode yang lalu sebagai dasar perencanaan.
5. Perlu adanya SIM di dalam mengawasi dan menjamin kualitas obat dan kondisi *stock* sehingga terhindar dari kerusakan, kehilangan, kekurangan dan kelebihan.
6. Melakukan perencanaan obat dengan selektif yang mengacu pada prinsip efektif, aman, ekonomis dan rasional dan diadakan koreksi dengan metode ABC-VEN.
7. Menggunakan 10 penyakit teratas di dalam proses seleksi dan perencanaan.
8. Mengadakan/mengikutsertakan tenaga instalasi farmasi di dalam kegiatan pelatihan mengenai *inventory control management*.
9. Mengoptimalkan sistem penerapan satu pintu disertai dengan sarana dan prasarana serta SDM yang menunjang serta mengevaluasi dan melakukan sistem perencanaan dan pengadaan obat dengan selektif disesuaikan dengan kebutuhan rumah sakit serta mengacu pada prinsip efektif, aman, ekonomis dan rasional.
10. Melakukan koordinasi rutin kepada *supplier* atau distributor dan bekerjasama dengan beberapa apotek di luar RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara di dalam penyediaan obat-obatan *cito*.
11. Memberdayakan PFT dalam rangka evaluasi dan monitoring terhadap penggunaan obat di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara.
12. Melakukan kebijakan farmasi satu pintu dan mengusulkan kepada manajemen rumah sakit agar mengintegrasikan SOP tentang perbekalan farmasi.
13. Harus memilih *supplier* secara selektif (pabrik, distributor) yang memenuhi aspek mutu produk yang terjamin, aspek legal dan harga murah.
14. Pemantauan dan pengawasan terhadap *stock* setiap bulan agar dapat diketahui adanya obat yang merupakan *stock* mati.
15. Peran PIO dalam memberikan informasi obat sehingga peresepan obat lebih rasional, efektif dan efisien.
16. Menetapkan SOP dan waktu pengadaan obat melalui pembelian langsung.
17. Mengembangkan SOP distribusi perbekalan farmasi dan perlu adanya penggunaan SIM dan mengendalikan distribusi perbekalan farmasi sehingga dapat berjalan optimal.
18. Pendataan obat-obat yang mendekati tanggal kadaluwarsa.
19. Memberdayakan PFT dalam rangka evaluasi dan monitoring terhadap pengelolaan obat di RSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara.
20. Menyediakan jumlah persediaan, data persediaan dan dukungan SIM berbasis IT.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di IFRSUD Karel Sadsuitubun Kabupaten Maluku Tenggara didapatkan sistem pengelolaan obat sebagai berikut:

Tahapan pengelolaan obat yang sesuai dengan standar yaitu: Kesesuaian item obat yang tersedia dengan DOEN (77,56%), persentase modal/dana yang tersedia dengan keseluruhan dana yang dibutuhkan (100%), kecocokan kartu *stock* obat (100%), rata-rata waktu yang digunakan untuk melayani resep sampai ke tangan pasien, persentase penulisan resep obat generik (96,52%), persentase obat yang dilabeli dengan benar (100%). Tahapan pengelolaan obat yang belum sesuai dengan standar yaitu: persentase kesesuaian antara perencanaan obat dengan kenyataan pakai untuk masing-masing item obat (72,73%), persentase alokasi dana pengadaan obat (6,51%), frekuensi pengadaan tiap item obat 1 kali sedangkan menurut EOQ 2 kali, nilai ITOR (5,77 kali), tingkat ketersediaan obat (11,47 bulan), persentase nilai obat

kadaluwarsa/rusak (2,21%), persentase *stock* mati (5%), jumlah item obat tiap lembar resep (3,23), persentase resep yang tidak terlayani (13,84%).

Dari hasil penelitian di atas, maka dilakukan analisis prioritas rencana perbaikan tindakan menggunakan Metode Hanlon, adapun hasil sesuai dengan urutan skala prioritas sebagai berikut : 1) membentuk Panitia Farmasi dan Terapi (PFT) dan menyusun formularium rumah sakit, serta melakukan monitoring dan evaluasi terhadap proses pengelolaan obat 2) melakukan pengusulan kenaikan anggaran kepada ke Pemerintah Daerah dan DPRD kabupaten Maluku Tenggara, 3) melakukan analisis ABC-VEN di dalam proses perencanaan, 4) mengusulkan kepada pihak manajemen rumah sakit agar mengintegrasikan SOP tentang perbekalan farmasi, 5) menerapkan Sistem Informasi Manajemen (SIM) dalam proses pengelolaan obat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andyaningsih. 1996. *Financing Drugs in South-East Asia. World Health Organization*. Geneva
- DepKes RI., 2002, *Pedoman Supervisi Dan Evaluasi Obat Publik dan Perbekalan Kesehatan*, 8-15, Direktorat Jenderal Pelayanan Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI., 2004, Keputusan Menteri Kesehatan RI No.1197/Menkes/SK/X/2004 *tentang Standar Pelayanan Farmasi di Rumah Sakit*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Fakhriadi A., Marchaban., Pudjaningsih D., (2011), *Jurnal Analisis pengelolaan Obat di Instalasi Farmasi Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Temanggung, Vol. 1., No 2. No hal 66-69.*
- Lilihata R.N., 2011, *Analisis Manajemen Obat di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Umum Daerah Masohi Kabupaten Maluku Tengah (Tesis)*. Jogjakarta : Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada
- Pudjaningsih,D., 1996, *Pengembangan Indikator Efisiensi Pengelolaan Obat di Instalasi Farmasi Rumah Sakit (Tesis)*. Jogjakarta : Fakultas Kedokteran, Program Pendidikan Pascasarjana, Magister Manajemen Rumah Sakit, Gadjah Mada.
- Quick,J.D., Rankin, J.R., Laing, R.O., O'Connor, R.W., Hogerzeil, H.V., Dukes, M.N.G., dan Garnett A., 1997, *Managing Drug Supply : The Selection, Procurement, distribution, and use of pharmaceuticals in primary health care*, second edition, Connecticut, Kumarin Press Inc.

- Satriyani., 2012, Analisis Efisiensi Pengelolaan Obat di Instalasi Farmasi Rumah Sakit Umum Daerah Pandan Arang Boyolali dan Rencana Pengembangan Berbasis Metode Hanlon (*Tesis*). Surakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Setia Budi.
- Siregar,C.J.P., dan Amalia, L., 2003, *Farmasi Rumah Sakit, Teori dan Penerapan*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- WHO, 1993., *How to Investigate Drug Use in Health Facilities, Selected Drug Use Indikator, Action Program on Essential Drug*, WHO, Geneve

## GAMBIR TERSTANDAR MEMPERBAIKI FUNGSI GINJAL TIKUS GAGAL GINJAL YANG DIINDUKSI GLISEROL DAN L-NAME

Yona Harianti Putri, Deddi Prima Putra, dan Armenia  
Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

### ABSTRAK

*Uncaria gambir* Roxb. merupakan salah satu tanaman yang kaya akan senyawa antioksidan. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh gambir dalam meredam efek oksidan yang merusak organ. Pada penelitian ini, ekstrak gambir terstandar diberikan kepada tikus gagal ginjal akibat stres oksidatif. Proses induksi gagal ginjal pada tikus dilakukan dengan menyuntikkan gliserol 10 ml/kgBB (dalam saline 50%) secara intramuskular dan dilanjutkan dengan pemberian LNAME 20 mg/kgBB peroral selama 1 hari. Tikus gagal ginjal kemudian diberi gambir terstandarisasi dengan dosis 2.5, 5, dan 10 mg/kgBB selama 3 dan 8 hari. Sebagai pembanding digunakan kelompok tikus gagal ginjal yang diberi NaCl fisiologis. Kreatinin serum dan bersihan kreatinin diukur pada hari ke-4 dan ke-9, sedangkan volume urine 24 jam diukur setiap hari. Data penelitian diolah secara statistik menggunakan Analisa Varian 2 arah yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Kebermaknaan yang diambil pada batas kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian gambir terstandar dosis 2.5 dan 10 mg/kgBB dapat menurunkan kreatinin serum sebesar  $54,89 \pm 6.40\%$  dan  $59,06 \pm 12.61\%$ , meningkatkan bersihan kreatinin sebesar  $56,53 \pm 15,51\%$  dan  $55,19 \pm 14.88\%$ . Walaupun volume urin 24 jam tikus yang diberi gambir lebih rendah dibanding kontrol, tetapi masih dalam rentang normal. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian gambir terstandar dapat memperbaiki fungsi ginjal yang rusak akibat stres oksidasi.

**Kata kunci:** antioksidan, gambir terstandarisasi, gagal ginjal, dan kreatinin serum.

### PENDAHULUAN

Polusi udara, asap pabrik, sinar ultraviolet, dan zat karsinogenik dalam makanan adalah sumber radikal bebas yang banyak berada di sekitar kita. Radikal bebas tersebut bekerja dalam tubuh dengan cara merusak pertahanan sel seperti asam lemak, asam deoksiribonukleat (DNA), dan protein (Young & Woodside, 2001). Apabila paparan radikal bebas terjadi berlebihan dan tubuh tidak memiliki kemampuan untuk meredam aktivitas tersebut akan terjadi kerusakan pada organ. Kondisi tersebut biasa disebut stres oksidasi (Wu & Cederbaum, 2003)

Penyakit ginjal merupakan penyakit degeneratif yang erat kaitannya dengan kondisi stres oksidasi (Gale, 2001). Beberapa kasus penyakit ginjal disebabkan stres oksidasi seperti glomerulonefritis, inflamasi tubulus intersisial, dan hipertropi sel tubular.

Kerusakan sel-sel ginjal ini selanjutnya akan berpengaruh pada proses filtrasi dan reabsorpsi senyawa oleh ginjal (Pollack & Leeuwenburgh, 1999).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan efek merusak dari radikal bebas dan memberikan efek positif terhadap tubuh (Young & Woodside, 2001). Saat ini, penelitian mengenai efektivitas antioksidan dalam memperbaiki kerusakan organ dilakukan lebih intensif dan mendalam. Senyawa bahan alam yang kaya antioksidan yang dapat digunakan sebagai zat berkhasiat salah satunya adalah gambir terstandarisasi. Gambir (*Uncaria gambir*, Roxb) terstandarisasi mengandung katekin yang berperan sebagai antioksidan dengan kadar di atas 60% (SNI, 2000). Standarisasi pada tanaman herbal diperlukan untuk

mendapatkan efek ulangan atau *reproducible* (Dewoto, 2007). Herbal terstandar menurut peraturan Kepala Badan Pengembangan Obat dan Makanan (2005) harus terbukti keamanan khasiatnya secara ilmiah melalui uji praklinik dan menggunakan bahan baku telah distandardisasi. Jika keamanan khasiat dilanjutkan ke uji klinis serta dilakukan standarisasi terhadap proses produksi akan menghasilkan suatu fitofarmaka.

Secara tradisional gambir digunakan masyarakat sebagai pencampur sirih, penyamak kulit, ramuan obat diare, dan pewarna tekstil. Secara klinis ekstrak gambir dimanfaatkan sebagai antibakteri (Pambayun

*et al*, 2007), alternatif pengobatan dermatitis atopik (Hisano *et al*, 2003), mengurangi efek stres oksidasi pada fetus (Almahdi, 2010), dan antiseptik mulut (Lucida *et al*, 2007). Penelitian terbaru mengenai penggunaan gambir terstandarisasi terhadap hewan percobaan menunjukkan adanya efek antihipertensi (Charissa, 2012; Putri, 2012).

Kerusakan ginjal akibat stres oksidasi secara teoritis dapat dihindari dengan pemberian antioksidan (Kunwar & Priyadarsini, 2011). Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian antioksidan gambir terhadap fungsi ginjal yang rusak akibat stres oksidasi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan (Desember 2012 s/d Mei 2013) di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.

Tikus diaklimatisasi selama 1 minggu pada kondisi laboratorium, diberi makan dan minum yang cukup. Sebelum penginduksian gagal ginjal tikus dipuasakan dari makan dan minum selama 18 jam. Tikus diinduksi menggunakan gliserol 10 mg/kgbb secara intramuskular dosis tunggal, dilanjutkan dengan pemberian L-NAME secara oral dosis 20 mg/kgbb. Tikus dinyatakan gagal ginjal bila kadar kreatinin serum lebih besar dari 1.3 mg/dl. Tikus dibagi menjadi 4

kelompok, kelompok I adalah kelompok kontrol yang diberi NaCl fisiologis, sedangkan Kelompok II, III, dan IV adalah kelompok uji yang diberi gambir terstandarisasi dengan dosis berturut-turut 2.5, 5, dan 10 mg/kgbb. NaCl fisiologis dan gambir terstandarisasi diberikan pada tikus satu kali sehari selama 3 dan 8 hari. Selama perlakuan, volume urin 24 jam diukur dan ditentukan kreatinin urin. Pada hari ke-4 dan hari ke-9 darah tikus diambil sebanyak 2 cc dengan cara memotong arteri leher tikus untuk ditentukan kreatinin serumnya. Selanjutnya dihitung bersihan kreatinin.

## HASIL DAN DISKUSI

Sehari sebelum pemberian gliserol, hewan dipuasakan dari makanan dan minuman selama 18 jam (Vlahovic, 2000). Puasa akan menyebabkan tikus dehidrasi, volume darah menurun sehingga aliran darah ke ginjal berkurang. Berkurangnya aliran darah ke ginjal akan mengganggu proses filtrasi. Pemberian gliserol 10 ml/kgBB (50% v/v dalam saline) secara intramuscular menyebabkan terjadinya iskemia pada sel ginjal dan neprotoksik pada tubulus (Dai, 2002; Wolfert, 1989). Kondisi ini umum dikenal dengan sebutan *Acute Tubular Necrosis*.

L-NAME merupakan inhibitor Nitrit Oksida Sintase. Penghambatan Nitrit Oksida Sintase (NOS) berakibat pada tidak di produksinya Nitrit Oksida. Nitrit Oksida merupakan agen vasorelaksasi yang berfungsi sebagai renal hemodinamik (Azize *et al*, 2009). NO memiliki kemampuan menginaktivasi oksigen yang dibawa oleh radikal bebas saat iskemia berlangsung (Goldfarb & Adler, 2001). Oleh karena itu, terhambatnya produksi nitrit oksida oleh L NAME dapat memperparah kerusakan sel akibat radikal bebas sehingga menimbulkan kondisi stres oksidasi. Keadaan ini

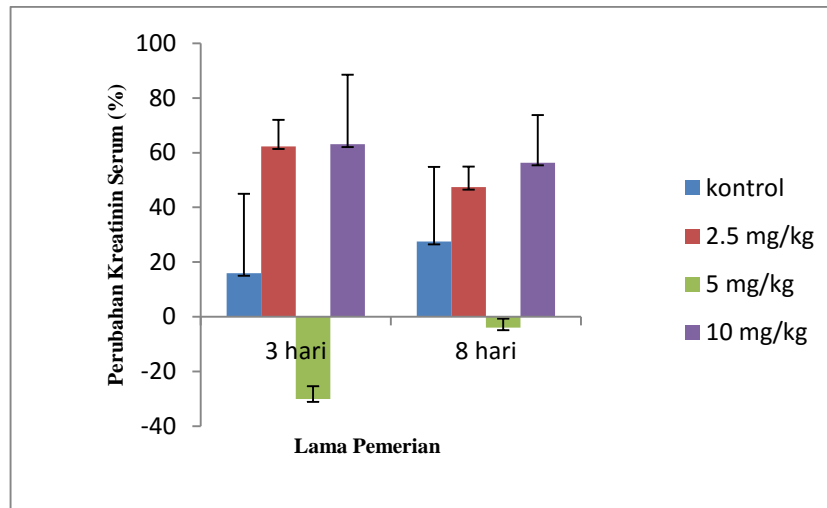


diharapkan akan memperparah kerusakan ginjal yang diakibatkan oleh pemberian gliserol.

Gambir yang diberikan pada tikus gagal ginjal merupakan gambir terstandarisasi yang berbentuk biskuit. Spesifikasi gambir ini lebih baik dari persyaratan yang ditetapkan BSNI. Untuk kadar katekin contohnya, kadar katekin

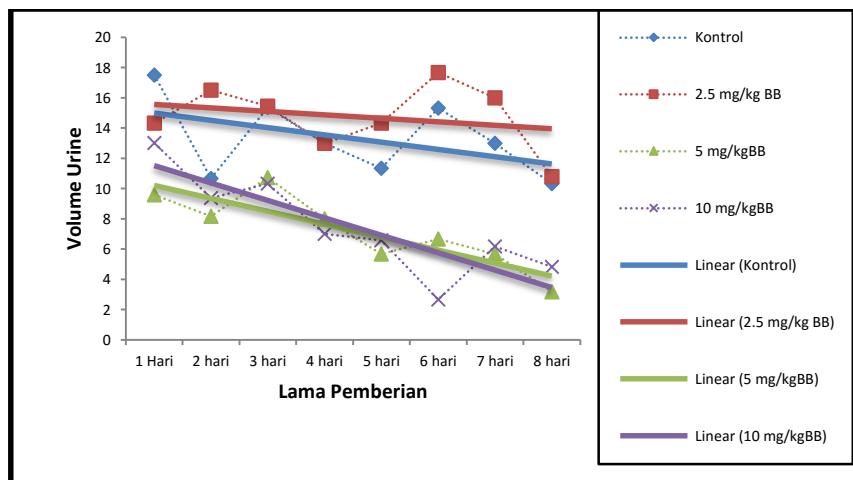
dalam gambir yang digunakan minimal 88,5%. sedangkan kadar katekin yang dipersyaratkan SNI hanya 60% (SNI, 2000).

Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap beberapa parameter pengukuran fungsi ginjal yakni kreatinin serum, volume urin 24 jam dan bersihan kreatinin.



Gambar 1. Hubungan antara lama pemberian gambir terstandarisasi terhadap perubahan kreatinin serum (%).

Pemberian dosis ekstrak gambir terstandarisasi pada tikus gagal ginjal menyebabkan perubahan persentase kreatinin serum secara signifikan ( $P < 0.05$ ). Akan tetapi, perubahan persentase ini tidak signifikan bila diberikan pada waktu yang lebih lama ( $P > 0.05$ ). Tidak tampak adanya pengaruh interaksi yang nyata dosis dan lama pemberian terhadap perubahan persentase kreatinin serum pada tikus yang gagal ginjal ( $P > 0.05$ ).



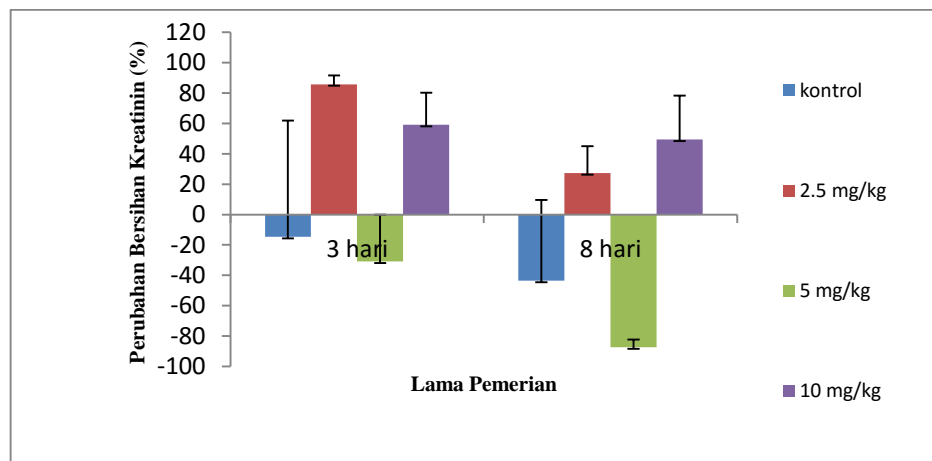
Gambar 2. Hubungan antara lama pemberian gambir terstandarisasi terhadap volume urin 24 jam.

Perubahan persentase ke arah positif menunjukkan perbaikan fungsi ginjal, sedangkan perubahan persentase ke arah negatif menunjukkan memburuknya fungsi ginjal. Data perubahan persentase kreatinin serum rata-rata dari tikus gagal ginjal kelompok kontrol dan tikus gagal ginjal yang diberikan gambir terstandarisasi dengan dosis 2.5, 5, dan 10 mg/kgbb berturut-turut adalah  $22.89 \pm 17.77$ ,  $54.89 \pm 6.40$ ,  $-14.42 \pm 6.82$  dan  $59.06 \pm 12.61$ . Sedangkan data persentase kreatinin serum rata-rata berdasarkan lama pemberian 3 hari dan 8 hari adalah  $31.66 \pm 15.14$  dan  $31.84 \pm 9.98$ .

Data percobaan memperlihatkan adanya pengaruh dosis gambir terstandarisasi terhadap penurunan volume urin 24 jam pada tikus yang gagal ginjal ( $P < 0.05$ ). Akan tetapi, lama pemberian gambir

terstandarisasi tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap volume urin 24 jam tikus gagal ginjal ( $P > 0.05$ ). Tidak terlihat adanya pengaruh interaksi yang signifikan dosis dan lama pemberian gambir terstandarisasi terhadap volume urin 24 jam tikus yang gagal ginjal ( $P > 0.05$ ).

Data volume urin 24 jam rata-rata dari tikus gagal ginjal kelompok kontrol dan tikus gagal ginjal yang diberikan gambir terstandarisasi dengan dosis 2.5 mg/kgbb, 5 mg/kgbb, dan 10 mg/kgbb berturut-turut adalah  $13.13 \pm 0.87$ ,  $14.89 \pm 1.04$ ,  $7.97 \pm 0.74$ ,  $8.80 \pm 0.96$ . Sedangkan, data volume urin rata-rata berdasarkan lama pemberian 1 hari sampai 8 hari adalah  $12.67 \pm 1.09$ ,  $11.25 \pm 1.49$ ,  $12.62 \pm 1.26$ ,  $10.25 \pm 1.04$ ,  $9.48 \pm 1.28$ ,  $10.58 \pm 2.48$ ,  $10.21 \pm 1.91$ ,  $7.28 \pm 1.18$ .



Gambar 3. Hubungan antara lama pemberian gambir terstandarisasi terhadap perubahan bersihan kreatinin (%).

Perbedaan dosis gambir terstandarisasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan persentase bersihan kreatinin tikus yang gagal ginjal ( $P < 0.05$ ). Akan tetapi, lama pemberian gambir terstandarisasi pada tikus gagal ginjal tidak mempengaruhi perubahan persentase bersihan kreatinin secara signifikan ( $P > 0.05$ ). Tidak terdapat pengaruh interaksi dosis dan lama pemberian terhadap perubahan persentase bersihan kreatinin secara signifikan ( $P > 0.05$ ). Data perubahan

persentase bersihan kreatinin rata-rata dari tikus gagal ginjal kelompok kontrol dan kelompok uji dosis 2.5 mg/kgbb, 5 mg/kgbb, dan 10 mg/kgbb berturut-turut adalah  $-29.09 \pm 38.94$ ,  $56.53 \pm 15.51$ ,  $-59.10 \pm 20.71$ , dan  $55.19 \pm 14.88$ . Sedangkan data bersihan kreatinin rata-rata berdasarkan pemberian 3 hari dan 8 hari adalah  $34.32 \pm 20.96$  dan  $-8.98 \pm 21.95$ .

Pada plot perubahan persentase kreatinin serum dan bersihan kreatinin terdapat dua arah perubahan persentase yakni

menuju arah positif dan arah negatif. Perubahan persentase menuju arah positif mengindikasikan perbaikan fungsi ginjal, sedangkan perubahan persentase menuju arah negatif mengindikasikan rusaknya fungsi ginjal. Dari data penelitian terlihat adanya perbaikan fungsi ginjal pada tikus gagal ginjal yang diberikan gambir terstandarisasi dengan dosis 2.5 mg/kgbb dan 10 mg/kgbb, sedangkan untuk pemberian gambir terstandarisasi dosis 5 mg/kgbb terjadi kerusakan terhadap fungsi ginjal. Fenomena seperti ini cukup sering terjadi, dimana pemberian sediaan pada dosis pertengahan tidak memberikan efek yang diharapkan. Ada beberapa alasan yang menjadi perhatian dalam membahas masalah ini. Pertama, proses induksi menghasilkan tingkat keparahan gagal ginjal yang berbeda untuk setiap hewannya. Tingkat keparahan ini tentu akan memengaruhi dosis gambir terstandarisasi yang diperlukan untuk memperbaiki kerusakan ginjal. Gambir terstandarisasi dosis 5 mg/kgbb yang diberikan belum mampu meredam kerusakan ginjal pada hewan percobaan yang terlalu parah. Kedua, selektivitas sediaan atau obat. Setiawati dkk. (2009) menerangkan bahwa obat dapat dinyatakan selektif jika hanya menghasilkan satu efek pada dosis rendah dan efek lain baru timbul pada dosis yang lebih tinggi. Alasan ketiga, sediaan yang

diberikan pada tikus gagal ginjal bukan senyawa murni melainkan dalam bentuk ekstrak. Ekstrak dari obat herbal seperti gambir, menurut WHO (2000) bisa mengandung beberapa komponen bahan aktif. Oleh sebab itu, peningkatan dosis tidak selalu linear dengan peningkatan efek terapi yang diharapkan. Dari data volume urin 24 jam memperlihatkan semakin lama volume urin semakin menurun. Akan tetapi, penurunan volume tersebut masih dalam rentang volume urin normal (7 mL – 13 mL). Menurut Akbarzadeh (2007) tikus normal menghasilkan volume urin rata-rata  $10 \pm$  mL. Pada penyakit gagal ginjal, laju filtrasi glomerulus akan menurun disertai kerusakan pada tubulus yang menyebabkan reabsorpsi cairan berkurang. Hal inilah yang menyebabkan volume urin pada penderita gagal ginjal tetap normal atau malah meningkat (Prosono, 2008). Oleh karena itu, data volume urin 24 jam saja tidak cukup untuk menilai perbaikan fungsi ginjal pada hewan percobaan.

Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa pemberian gambir terstandarisasi dosis 2.5 mg/kgbb dan 10 mg/kgbb menyebabkan terjadinya penurunan kreatinin serum dan peningkatan bersihan kreatinin. Hal ini mengindikasikan terjadinya perbaikan fungsi ginjal pada tikus gagal ginjal akibat stres oksidasi.

## KESIMPULAN

Gambir terstandarisasi dapat memperbaiki fungsi ginjal pada tikus gagal ginjal akibat stres oksidasi terutama pada dosis 10 mg/kgbb.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mahrabi, M.R., Jamshidi, Sh., Farhangi, A., Verdi, A.A., Mofidian, S.M.A., & Rad, L.B. (2007). Induction of Diabetes By Streptozotocin In Rats. *Indian Journal Of Clinical Biochemistry*. 22 (2) 60-64.
- Almahdy A. (2010). Pengaruh ekstrak gambir *Uncaria gambir* Roxb. Terhadap fetus dari mencit hamil diinduksi alkohol. *Majalah farmasi Indonesia*, 21(2),115-120.
- Azize, S., köksal, M., Oba R., Yardimci T. (2009). The Effect S Of L-Arginine On Urinary Nitric Oxide Metabolite S And Renal Lipid Peroxidation In Cisplatin Treated Rats. *Turk J. Pharm. Sci* 6 (2), 83-92.

- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. (2005). *Peraturan Kepala Badan POM No. HK.00.05.4.1384. Tentang Kriteria dan Tata laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar, dan Fitofarmaka*. Badan POM. Jakarta.
- Balai Penelitian dan Pengembangan Industri Padang. 2000. *Standar Nasional (SNI) Gambir, 01-3391-2000*. Departemen Perindustrian dan Perdagangan
- Charissa, N. (2012). *Pengaruh Gambir Terstandardisasi terhadap Tekanan Darah laju jantung dan Volume Urin Tikus Hipertensi* (skripsi). Padang: Universitas Andalas
- Dai, R.P., Dheen, S.T., Tay S.S. (2002). Induction Of Cytokine Expression In Rat Post Ischemics In Oatrial Node. *Cell Tissue Res* 310: 59–66.
- Dewoto, H.R. (2007). Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57 (7).
- Gale, J. (2001). Oxidative stres in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 16 (7) 2135.
- Goldfarb, S & Adler, S.H. (2001). Acute Renal Failure: Pathophysiology And Treatment. *Hospital Physician, Nephrology Board Review Manual Vol 4*. Turner White Communications Inc. Wayne.
- Hisano, M., Yamaguchi, K., Inoue, Y., Ikeda, Y., Iijima, M., Adachi, M., & Shimamura, T. (2003). Inhibitory effect of catechin against the superantigen Sthapylococcal enterotoxin B (SEB). *Arch Dermatol Res* 295.183-189.
- Kunwar, A. & Priyadarsini, K.I. (2011). Free radicals, Oxidative Stress, and Importance of Antioxidants in Human Health. *J Med Allied Sci* 1 (2) 53-60.
- Lucida H., Bakhtiar A., & Putri, W.P. (2007). Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir. *J.Sains Tek. Far* 12(1).
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S., & Kuswanto. K.R. (2007). Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir. Roxb*). *Majalah Farmasi Indonesia* 18 (3) 141-146.
- Pollack, M & Leeuwenburgh C. (1999). Molecular mechanism of oxidative stres in aging: Free radical, aging, antioxidant and disease. *Handbook of Oxidant and Antioxidant in exercise* X. 881-923. Elsevier science B.V.
- Prosono. (2008). *Renal Pathophysiology; Normal Anatomy and Physiology*. Professional Ultrasound Service. San Francisco.
- Putri, T.P. (2012). *Pengaruh Pemberian Gambir Terstandardisasi Terhadap Tekanan Darah Tikus Hipertensi Terkait Stres oksidasi* (Skripsi). Padang: Universitas Andalas.
- Setiawati, A., Suyatna, F.D., & Gan, S. (2009). *Pengantar Farmakologi; Farmakologi dan Terapi*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Vlahovic, P., Cvetkovic, T., Savic, V., Stefanovic, V. (2007). Dietary Curcumin Does Not Protect Kidney In Glycerol-Induced Acute Renal Failure. *Food Chem Toxicol* 45. 1777–1782.
- Wolfert, A.I. & Oken, D.E. (1989). Glomerular Hemodynamics In Established Glycerol Induced Arf In The Rat. *J Clin Invest* 84. 1967–1973.
- World Health Organization. (2000). *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*. WHO. Geneva.
- Wu, D & Cederbaum, A.I. (2003). Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health* 27 (4) 277-284.
- Young, I.S. & Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 54.176-186.

## STUDI EFEK ANTIHIPERTENSI TUMBUHAN TALI PUTRI (*Cassytha filiformis* L.) PADA TIKUS HIPERTENSI YANG DIINDUKSI PREDNISON DAN GARAM

Yori Yuliandra\*, Armenia, Helmi Arifin

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

\*email: yoriyuliandra@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian tentang efek antihipertensi dari ekstrak bebas lemak tumbuhan tali putri (*Cassytha filiformis* L.) telah dilakukan pada tikus hipertensi. Sebanyak 30 ekor tikus galur Sprague-Dawley diberikan Prednison-NaCl selama 14 hari secara oral untuk mendapatkan tikus hipertensi. Semua tikus dianestesi untuk pengukuran tekanan darah secara langsung. Tikus hipertensi dibagi menjadi kelompok kontrol, kelompok ekstrak (5, 10, dan 20 mg/kg), dan kelompok tempol. Masing-masing tikus menerima 3 kali pengulangan dosis yang diberikan secara intravena dengan interval 1 jam. Dalam setiap interval dosis, tekanan darah sistol (TDS), tekanan darah diastol (TDD), tekanan arteri rata-rata (TAR), laju jantung (LJ) diukur. Semua parameter kardiovaskular disajikan sebagai rata-rata persen perubahan  $\pm$  SEM. Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA tiga arah dan Tukey's HSD. Tingkat kebermaknaan diambil pada nilai  $P < 0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bebas lemak dari tumbuhan tali putri dapat menurunkan TDS, TDD, TAR dan LJ secara signifikan. Ekstrak pada dosis 5 mg/kg dan tempol 100  $\mu$ mol/kg menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dalam menurunkan tekanan darah.

**Kata kunci:** tali putri, *cassytha filiformis*, antihipertensi, tekanan darah, laju jantung,

### PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan penyakit kardiovaskuler yang paling umum terjadi dan menjangkiti 20-50% populasi dewasa pada negara-negara berkembang (Kearney, 2004). Peningkatan tekanan darah merupakan faktor resiko terhadap penyakit kardiovaskuler seperti gagal jantung, stroke, dan gagal ginjal (Mancia, 2008).

Salah satu etiologi hipertensi adalah ketidakseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan nitrogen monoksida (NO) pada pembuluh darah. Kedua faktor ini diproduksi secara normal oleh pembuluh darah dan berada dalam keadaan seimbang untuk mempertahankan tekanan darah yang normal (Daniel, 2002). Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya disfungsi endotel (Sainani *et al.*, 2004) dan hal ini ditemukan pada beberapa kondisi patologis seperti aterosklerosis, diabetes, kerusakan ginjal, dan hipertensi (Prabha *et al.*, 1990). Peningkatan kadar ROS

berkontribusi dalam terjadinya hipertensi. Hal ini diperkuat dengan tingginya kadar ROS pada beberapa model hipertensi pada hewan percobaan, yakni pada model hipertensi Angiotensin II, L-NAME (Attia *et al.*, 2001), Dahl (Meng *et al.*, 2003), SHR (Chabrashvili *et al.*, 2002), dan model DOCA-Salt (Jin *et al.*, 2006).

Tumbuhan tali putri (*Cassytha filiformis* L.) yang dikenal sebagai parasit ini merupakan tumbuhan yang mengandung komponen fenol, alkaloid, flavonoid, dan saponin (Vimal *et al.*, 2009). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa tumbuhan ini bersifat vasorelaksan terhadap pembuluh darah (Tsai *et al.*, 2008); dapat meningkatkan waktu pendarahan pada mencit (Armenia, 2007); menurunkan berat badan pada kondisi diet tinggi lemak (Armenia, 2010); dan mempunyai efek antidiabetes pada penggunaan jangka panjang. Penggunaan ekstrak tumbuhan ini menunjukkan toksisitas

yang rendah (Babayi *et al.*, 2007). Evaluasi terhadap efek antioksidan tumbuhan ini memperlihatkan potensi terapeutik yang

menjanjikan dan dapat dipertimbangkan untuk tujuan pengembangan obat (Mythili *et al.*, 2011).

## METODE PENELITIAN

### *Bahan Tumbuhan*

Herba tali putri dikoleksi dari kota Padang, Sumatera Barat. Herba yang sudah dikeringanginkan diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak bebas lemak diperoleh melalui fraksinasi dengan pelarut heksan.

### *Hewan Percobaan*

Sebanyak 15 ekor tikus jantan galur Sprague-Dawley dengan berat  $\pm 250$  g dan umur 3-4 bulan diberikan kombinasi prednison 1,5 mg/kg dan larutan garam 2% selama 14 hari

### *Pengukuran Parameter Kardiovaskular*

Semua tikus dianestesi untuk pengukuran tekanan darah dan laju jantung secara langsung melalui arteri karotis (Biopac MP150 Data Acquisition System). Setiap

kelompok hewan diberikan 5 dosis yang berbeda: kontrol; ekstrak 5, 10, dan 20 mg/kg; dan tempol 100  $\mu$ mol/kg. Sampel uji disuspensikan dengan bantuan polisorb 80 dan diberikan kepada hewan melalui rute intravena 0,1% v/b. Setiap hewan menerima 3 kali pengulangan dosis dengan interval waktu 1 jam.

### *Analisis Data*

Data tekanan darah dan laju jantung disajikan sebagai rata-rata persen perubahan  $\pm$  SEM. Data dianalisis dengan menggunakan Three Way ANOVA (Analysis of Variance) dan dilanjutkan dengan Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) dengan tingkat kebermaknaan 95%.

## HASIL DAN DISKUSI

### *Hasil*

Proses induksi tekanan darah pada kelompok hipertensi menyebabkan

terjadinya hipertensi pada kedua kelompok tikus. (Lihat Tabel 1).

Tabel 1. Nilai tekanan darah, laju jantung, dan konsentrasi NO plasma setelah dilakukan proses induksi hipertensi dan hipertensi stres oksidasi

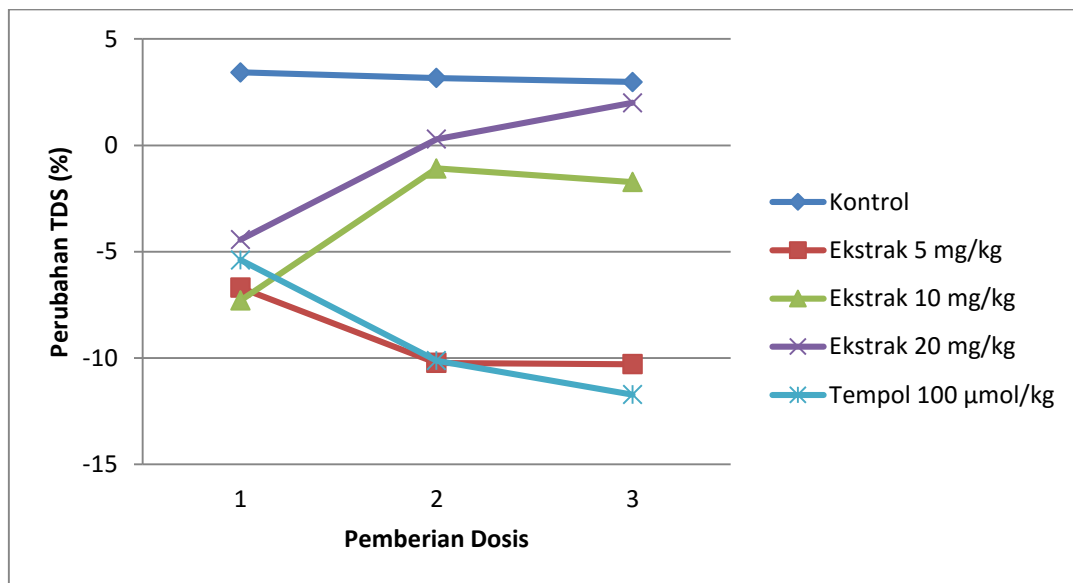
TDS (mmHg)	TDD (mmHg)	TAR (mmHg)	LJ (bpm)
192,3 $\pm$ 3,40	162,6 $\pm$ 4,07	177,5 $\pm$ 3,54	319,5 $\pm$ 10,65

Keterangan: Data dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  SEM.

### Tekanan Darah Sistol (TDS)

Respons perubahan TDS akibat pemberian dosis yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $P < 0,05$ ). Penurunan TDS yang paling besar diberikan oleh ekstrak 5 mg/kg dan tempol 100  $\mu$ mol/kg ( $P > 0,1$ ), yaitu sebesar  $-13,9 \pm 2,28$  dan  $-12,6 \pm 3,36\%$ . Penurunan tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ),

dimana kelompok kontrol menyebabkan perubahan TDS sebesar  $0,2 \pm 1,13\%$ . Ekstrak pada dosis 10 dan 20 mg/kg menyebabkan penurunan TDS yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak 5 mg/kg ( $P < 0,05$ ), namun penurunan tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol ( $P > 0,1$ ) yaitu sebesar  $-4,5 \pm 1,49$  dan  $-4,8 \pm 1,83\%$ .



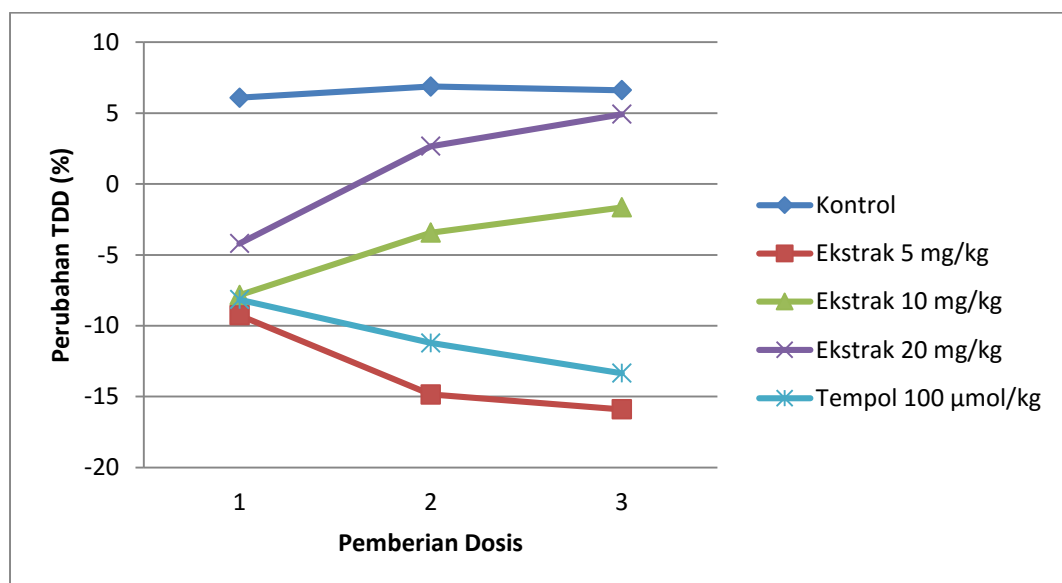
Gambar 1. Penurunan TDS oleh ekstrak tali putri pada hewan hipertensi

Pengulangan dosis tidak menyebabkan pengaruh yang bermakna terhadap penurunan TDS ( $P>0,1$ ). Meskipun demikian, tempol 100 µmol/kg menyebabkan penurunan TDS yang semakin besar akibat pengulangan dosis (Gambar 1).

#### Tekanan Darah Diastol (TDD)

Respons perubahan TDD akibat pemberian dosis yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $P<0,05$ ). Penurunan TDD yang paling besar diberikan oleh ekstrak 5 mg/kg dan tempol 100

µmol/kg ( $P>0,1$ ), yaitu sebesar  $-16,3\pm2,80$  dan  $-12,8\pm3,49\%$ . Penurunan tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol ( $P<0,05$ ), dimana kelompok kontrol menyebabkan peningkatan TDD sebesar  $2,2\pm1,48\%$ . Ekstrak pada dosis 10 dan 20 mg/kg menyebabkan penurunan TDD yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak 5 mg/kg ( $P<0,05$ ), dimana penurunan tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol ( $P>0,1$ ) yaitu sebesar  $-5,7\pm1,80$  dan  $-1,8\pm1,93\%$ .



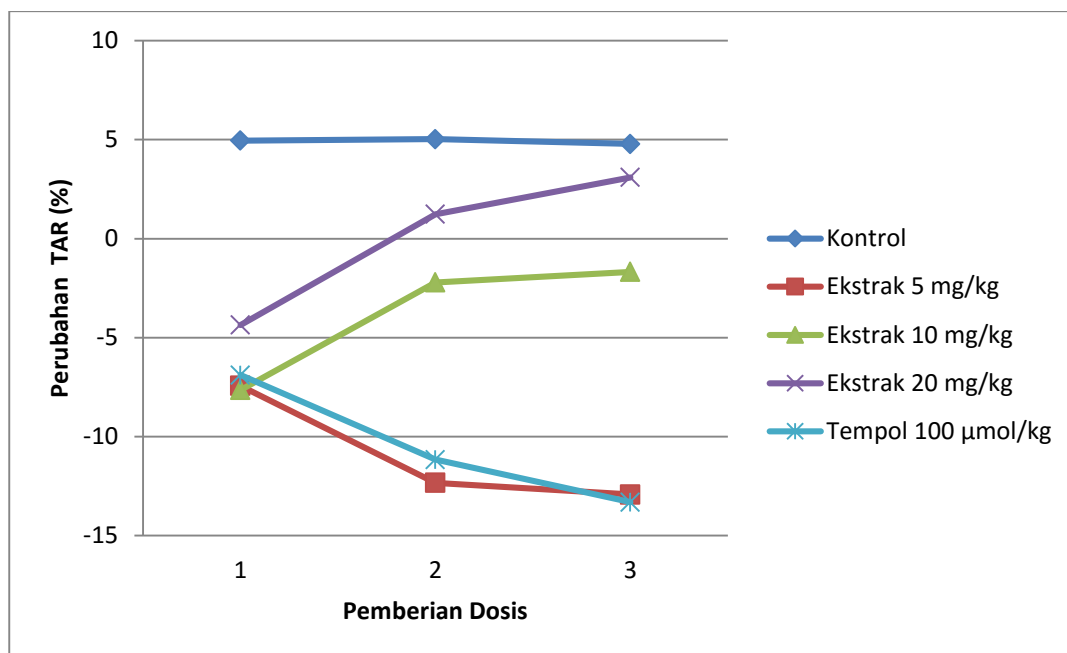
Gambar 2. Penurunan TDD oleh ekstrak tali putri pada hewan hipertensi

Pengulangan dosis tidak menyebabkan pengaruh yang bermakna terhadap penurunan TDD. Meskipun demikian, tempol 100  $\mu\text{mol/kg}$  menyebabkan penurunan TDD yang semakin besar akibat pengulangan dosis (Gambar 2).

#### Tekanan Arteri Rata-rata (TAR)

Respons perubahan TAR akibat pemberian dosis yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ( $P < 0,01$ ). Penurunan TAR yang paling besar diberikan

oleh ekstrak 5 mg/kg dan tempol 100  $\mu\text{mol/kg}$ , yaitu sebesar  $-14,9 \pm 2,51$  dan  $-13,0 \pm 3,52\%$  ( $P > 0,1$ ). Penurunan tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol yang menyebabkan perubahan TAR sebesar  $-1,2 \pm 1,26\%$  ( $P < 0,05$ ). Ekstrak 10 dan 20 mg/kg menyebabkan penurunan TAR sebesar  $-4,8 \pm 1,55$  dan  $3,1 \pm 1,79\%$  ( $P > 0,1$ ), dimana efek penurunan tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kontrol ( $P > 0,1$ ).



Gambar 3. Penurunan TAR oleh ekstrak tali putri pada hewan hipertensi

Pengulangan dosis tidak menyebabkan pengaruh yang bermakna terhadap penurunan TAR ( $P > 0,1$ ). Meskipun demikian, tempol 100  $\mu\text{mol/kg}$  menyebabkan penurunan TAR yang semakin besar akibat pengulangan dosis. (Gambar 3).

#### Laju Jantung (LJ)

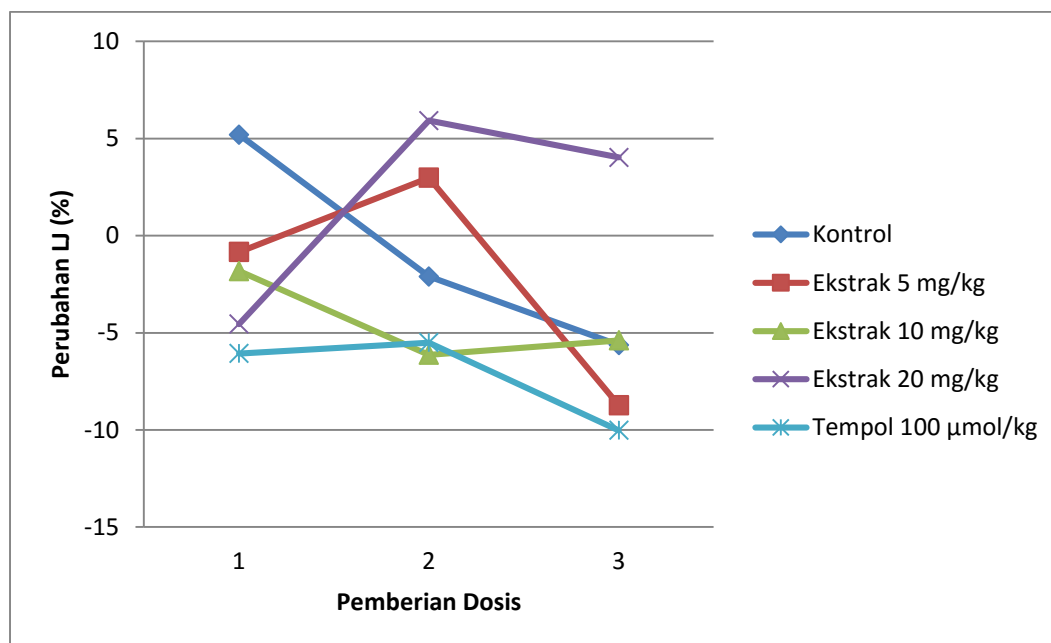
Respons perubahan LJ akibat pemberian dosis yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna ( $P < 0,01$ ). Penurunan LJ yang paling besar diberikan oleh tempol 100  $\mu\text{mol/kg}$ , yaitu sebesar  $-11,8 \pm 2,72\%$ . Penurunan tersebut menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna dibandingkan dengan ekstrak 20 mg/kg yang menyebabkan

peningkatan LJ sebesar  $2,4 \pm 3,17\%$  ( $P < 0,01$ ). Ekstrak 5 dan 10 mg/kg menyebabkan penurunan LJ sebesar  $-5,6 \pm 1,82$  dan  $-3,1 \pm 2,52\%$  ( $P > 0,1$ ), dimana penurunan tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna jika dibandingkan dengan kontrol yang menyebabkan penurunan LJ sebesar  $-5,4 \pm 2,30\%$  ( $P > 0,1$ ). Pengulangan dosis tidak menyebabkan pengaruh yang bermakna terhadap penurunan LJ ( $P > 0,1$ ). Meskipun demikian, tempol dosis 100  $\mu\text{mol/kg}$  dan kontrol menyebabkan penurunan LJ yang semakin besar akibat pengulangan dosis. Penurunan LJ akibat pengulangan dosis tempol pada kelompok hipertensi PN terlihat lebih tajam dibandingkan dengan kelompok hipertensi PNL, sebaliknya pengulangan



dosis kontrol pada kelompok hipertensi PNL menunjukkan penurunan LJ yang lebih

tajam dibandingkan dengan kelompok hewan hipertensi (Gambar 4).



Gambar 4. Penurunan LJ oleh ekstrak tali putri pada hewan hipertensi

#### Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk menginvestigasi efek antihipertensi dari tumbuhan tali putri (*Cassytha filiformis* L.). Beberapa efek farmakologis sudah berhasil diungkap dari tumbuhan ini dimana beberapa di antaranya merupakan efek farmakologis yang berkaitan erat dengan fungsi kardiovaskular, yaitu vasorelaksan (Tsai *et al.*, 2008); antiplatelet (Armenia, 2007); diuretik dan secara tradisional juga digunakan untuk mengatasi hipertensi (Chuakul *et al.*, 2000).

Dalam penelitian ini, pemberian kombinasi prednison dengan garam selama 14 hari menyebabkan peningkatan tekanan darah rata-rata menjadi  $177,7 \pm 2,86$  mmHg. Proses induksi hipertensi dengan metode yang sama oleh penelitian terdahulu menyebabkan peningkatan tekanan darah rata-rata menjadi  $148 \pm 10,69$  mmHg (Yuliandra *et al.*, 2007);  $170 \pm 4$  mmHg (Gusmelia *et al.*, 2011); dan 191 mmHg (Charissa *et al.*, 2012).

Hasil studi ini menunjukkan bahwa ekstrak bebas lemak dari tumbuhan tersebut

dapat menurunkan tekanan darah (TDS, TDD dan TAR) dan laju jantung (LJ) pada kedua kelompok hewan dan pada semua dosis yang diujikan. Penelitian terdahulu terhadap tali putri telah menunjukkan bahwa tumbuhan ini mempunyai beberapa efek farmakologis terhadap sistem kardiovaskular, terutama khasiatnya sebagai vasorelaksan yang berkaitan sangat erat dengan proses penurunan tekanan darah (Tsai *et al.*, 2008).

Berdasarkan kajian terhadap hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa ekstrak tali putri sebagai tumbuhan dengan kandungan antioksidan tinggi dapat menurunkan tekanan darah pada tikus hipertensi. Hal ini juga sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyimpulkan bahwa terapi antioksidan dapat menurunkan tekanan darah (Vaziri *et al.*, 2000; Kizhakekuttu & Widlansky, 2010). Hal ini meingindikasikan bahwa efek antihipertensi ekstrak tali putri sangat berkaitan erat dengan khasiat antioksidan dari tumbuhan tersebut, dimana respon penurunan tekanan darah

## KESIMPULAN

Ekstrak tali putri (*Cassytha filiformis* L.) mempunyai efek antihipertensi yang dapat menurunkan tekanan darah sistol, tekanan darah diastol, tekanan arteri rata-rata, dan laju jantung pada tikus hipertensi terkait stres oksidasi. Ekstrak tali putri pada dosis 5 mg/kg mempunyai potensi antihipertensi

yang tidak berbeda signifikan dengan pembanding tempol 100  $\mu\text{mol/kg}$  (18 mg/kg). Efek antihipertensi dari ekstrak tali putri terjadi melalui mekanisme yang diduga berkaitan dengan aktivitas antioksidan dari tumbuhan tersebut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui skema

penelitian hibah fundamental 2013 tahun pertama dari 2 tahun yang direncanakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Armenia, A. S. Munavvar, N. A. Abdullah, and H. Arifin. 2004. The contribution of adrenoceptor subtype(s) in the renal vasculature of diabetic spontaneously hypertensive rats. *Br J of Pharmacology*. 142: 719-726.
- Armenia, Welmidayani, Y. Yuliandra, dan Rusdi. 2007. Daun tanaman akar mambu (*Connarus grandis* Jack.) sebagai obat antihipertensi: efektivitas ekstrak etanolnya pada tikus hipertensi 2K1C Goldblatt. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 12 (2): 100-107.
- Armenia. 2007. Efek ekstrak butanol tali putri sebagai antikoagulan pada mencit putih jantan. Padang: Universitas Andalas (Unpublished).
- Attia, D. M., A. M. Verhagen, and E. S. Stroes. 2001. Vitamin E alleviates renal injury, but not hypertension, during chronic nitric oxide synthase inhibition in rats. *J Am Soc Nephrol*. 12: 2585-2593.
- Babayi, H. M., Joseph, J. I. Udeme, J. A. Abalaka, J. I. Okogun, O. A. Salawu, D. D. Akumka, Adamu, S. S. Zarma, B. B. Adzu, S. S. Abdulmumuni, K. Ibrahim, B. B. Elisha, S. S. Zakariys, U. S. Inyang. 2007. Effect of oral administration of aqueous whole extract of *Cassytha filiformis* on haematograms and plasma biochemical parameters in rats. *Journal of Medical Toxicology*. 3 (4): 146-151.
- Biancardi, V. C., C.T. Bergamaschi, O. U. Lopes, and R. R. Campos. 2007. Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. *Braz J Med Biol Res*. 40: 401-408.
- Chabrashvili, T., A. Tojo, and M. L. Onozato. 2002. Expression and cellular localization of classic NADPH oxidase subunits in the spontaneously hypertensive rat kidney. *Hypertension*. 39: 269-274.
- Charissa, N., Armenia, dan A. Bakhtiar. 2012. Pengaruh gambir terstandarisasi terhadap tekanan darah, laju jantung dan volume urin tikus hipertensi. Skripsi Sarjana Farmasi, Universitas Andalas. Padang.
- Chuakul, W., P. Saralamp, and S. Prathanaturug. 2000. Thai herbal encyclopedia vol 2. Mahidol University, Bangkok: Amarin Printing and Publishing Public Company Limited. p 51(a), p 165(b), p 22(c), p 184 (d).

- Daniel, L. G. & A. C. Carol. 2002. Reactive oxygen species in biological systems: an interdisciplinary approach. Kluwer Academic Publishers, New York.
- Gusmelia, R., Armenia, dan Rusdi. 2011. Hubungan efek penurunan tekanan darah dengan efek diuretic dari fraksi air daun tanaman akar mambu (*Connarus grandis* Jack.) terhadap tikus hipertensi. Skripsi Sarjana Farmasi, Universitas Andalas. Padang.
- Kizhakekuttu T. J. and Widlansky M. E. 2010. Natural Antioxidants and Hypertension: Promise and Challenges. *Cardiovasc Ther.* 28 (4): 20-32.
- Mancia, G., G. Grassi, and S. E. Kjeldsen. 2008. Manual of hypertension of the European Society of Hypertension. Informa Healthcare. London.
- Meng, S., G. W. Cason, A. W. Gannon, L. C. Racusen, and R. D. Manning. 2003. Oxidative Stress in Dahl Salt-Sensitive Hypertension. *Hypertension.* 41: 1346-1352
- Mythili S., A. Sathivelu, and T.B. Sridharan. 2011. Evaluation of antioxidant activity of *Cassytha filiformis*. *IJABPT.* 2 (2): 380-385.
- Prabha, P. S., U. N. Das, R. Koratkar, P. S. Sagar, dan G. Ramesh. 1990. Free radical generation, lipid peroxidation and essential fatty acids in uncontrolled essential hypertension. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 41:27-33.
- Sainani, G. S. and V. G. Maru. 2004. Role of endothelial cell dysfunction in essential hypertension. *JAPI.* 52: 966-969.
- Tsai, T. H., Wang G. J., and Lin L. C. 2008. Vasorelaxing alkaloids and flavonoids from *Cassytha filiformis*. *J Nat Prod.* 71: 289-291.
- Vaziri, N. D., Ni Z., F. Oveisi, and D. L. Trnavsky-Hobbs. 2000. Effect of antioxidant therapy on blood pressure and no synthase expression in hypertensive rats. *Hypertension.* 36: 957-964.
- Vaziri, N. D., X. Q. Wang, F. Oveisi, and B. Rad. 2000. Induction of oxidative stress by glutathione depletion causes severe hypertension in normal rats. *Hypertension.* 36: 142-146.
- Vimal, K., B. J. Gogoi, M. K. Meghvansi, L. Singh, R. B. Srivastava, and D. C. Deka. 2009. Determining the antioxidant activity of certain medicinal plants of Sonitpur, (Assam), India using DPPH assay. *J Phytol.* 1 (1): 49-56.
- Zhou, X. J., N. D. Vaziri, X. Q. Wang, F. G. Silva, and Z. Laszik. 2002. Nitric oxide synthase expression in hypertension induced by inhibition of glutathione synthase. *JPET.* 300: 762-767.
- Zou, A. P., N. Li, and A. W. Cowley Jr. 2001. Production and actions of superoxide in the renal medulla. *Hypertension.* 37: 547-553.

**UJI AKTIVITAS BEBERAPA SUBFRAKSI EKSTRAK ETIL ASETAT DARI  
HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* Linn.) TERHADAP TITER ANTIBODI DAN  
JUMLAH SEL EUKOSIT PADA  
MENCIT PUTIH JANTAN**

**Yufri Aldi, Idil Farhan dan Dian Handayani**

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

**ABSTRAK**

The study concerning the activity of ethyl acetate subfraction from meniran herbs (*Phyllanthus niruri* Linn.) on antibody titers and leukocyte cell numbers in male white mice has been conducted. Subfraction 1,2,3,4,5,6,7 and 8 at dose 100mg/KgBB and twen 80 1% and sheep erythrocytes 5% as a control given for 7 days. Titters number and leukocyte cell numbers counted on day-8. The results show that subfraction 1,2,3,4,5,6,7 and 8 at dose of 100 mg / kgBB increased the titers number significantly ( $P < 0.05$ ), the highest activity is given by subfraction 4, whereas leukocyte cell numbers are not showed significant differences ( $P > 0.05$ ). This results indicated the the immunostimulant activity of ethyl acetate subfraction from meniran herb (*Phyllanthus niruri* Linn.).

Keywords: *Phyllanthus niruri* Linn., titer antibody, leucosit

**PENDAHULUAN**

Lingkungan di sekitar manusia mengandung berbagai jenis organisme yang bersifat patogen. Organisme tersebut bisa berupa bakteri, virus, jamur, protozoa, serta parasit. Organisme tersebut bisa menyebabkan penyakit pada manusia itu sendiri (Kresno, 2001).

Manusia mempunyai sistem pertahanan tubuh yang lengkap untuk menghadapi serangan organisme patogen. Akan tetapi, munculnya manifestasi penyakit pada seorang individu tidak hanya dipengaruhi oleh organisme patogen tersebut. Proses munculnya manifestasi penyakit dipengaruhi oleh sistem pertahanan tubuh yang lemah. Ketika sistem pertahanan tubuh (imunitas) berfungsi secara maksimal, paparan unsur patogen tidak sampai menimbulkan penyakit. Namun, dengan melemahnya imunitas tubuh, paparan ringan dapat menimbulkan penyakit, terlebih jika terjadi serangan agen infeksi yang ganas (Kresno, 2001)

Salah satu upaya yang digunakan masyarakat untuk mengatasi gangguan sistem imun adalah dengan mengkonsumsi

tanaman obat. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai imunomodulator adalah *Phyllanthus niruri* Linn. Saat keadaan fungsi dan jumlah sel imun kurang memadai, upaya peningkatan melalui pemberian imunostimulan menjadi sangat penting (Kresno, 2001).

Perkembangan penggunaan obat-obatan tradisional khususnya dari tumbuh-tumbuhan untuk membantu meningkatkan derajat kesehatan masyarakat sudah cukup meluas. Secara empiris masyarakat memanfaatkan tumbuh-tumbuhan tersebut sebagai obat, akan tetapi masih sedikit yang diteliti tentang kandungan zat aktif didalamnya, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang kandungan kimia dan efek farmakologinya (Putra, 2010).

Tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) telah digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan untuk batu ginjal, hepatitis, demam, flu, tuberkulosis, anemia, kanker hati, infeksi bakteri seperti penyakit kelamin dan infeksi saluran kemih, diabetes, hipertensi serta untuk diuretik, analgesik, dan antispasmodik. Dalam

penelitian klinis selama bertahun-tahun, tumbuhan ini telah menunjukkan aktivitas antihepatotoksik, antilithik, analgesik, hipotensi, antispasmodik, antivirus, antibakteri, diuretik, antimutagenik, dan aktivitas hipoglikemik (Taylor, 2003).

*Phyllanthus niruri* memiliki banyak kandungan kimia, salah satunya adalah golongan lignan, yaitu filantin dan hipofilantin. Filantin dilaporkan sebagai konstituen terapi aktif dan berfungsi sebagai agen hepatoprotektif (Arvind, Ram, Anil,

Madan, and Suman, 2006; Khan, 2010). Namun sejauh ini, berdasarkan studi literatur belum ada informasi tentang penelitian bioaktivitas ekstrak etil asetat herba meniran sebagai imunomodulator.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas subfraksi dari tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) untuk mengetahui pengaruhnya terhadap titer antibodi dan jumlah sel leukosit.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan adalah kertas saring, alat soklet, *rotary evaporator*, alat kromatografi kolom flash, vial, bejana (*chamber*), plat KLT, pipet tetes, lampu UV 254 nm, timbangan hewan, timbangan analitik, lumpang dan stamper, kaca objek, mortar dan stamper, neraca hewan, oral sonde, kandang mencit, mikroskop, mikropipet.

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.), *n*-heksan, etil asetat, air suling, NaCl fisiologis, eritrosit kambing, metanol murni, pewarna giemsa.

### Prosedur Kerja

Sebanyak 5 kg sampel kering meniran dirajang halus, kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat dalam botol coklat selama 5 hari sehingga didapat ekstrak. Ekstrak disaring dengan kertas saring Whatman No. 1 dan maserasi diulangi kembali sampai tiga kali. Gabungan filtrat maserat kemudian dikentalkan secara *in-vacuo* dengan menggunakan alat *rotary evaporator*.

Kemudian hasil ekstrak kental dikromatografi kolom flash menggunakan metoda SGP (Step Gradien Polarity) dengan perbandingan pelarut sebagai berikut: Heksan 100%, Heksan : etil asetat (19:1), Heksan : etil asetat (9:1), Heksan : etil asetat (4:1), Heksan : etil asetat (2:1), Heksan : etil asetat (1:1), Heksan : etil asetat (1:4), Etil asetat 100%

### Pembuatan larutan antigen

Darah kambing dicuci dengan NaCl fisiologis (1:1) masing-masing sebanyak 5 ml aduk homogen. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit, buang supernatannya, ulangi 3 kali dengan menambahkan NaCl fisiologis setiap pengulangan. Setelah didapatkan eritrosit kambing, kemudian buat suspensi 5%, caranya ambil 0,2 ml eritrosit kambing lalu tambahkan dengan NaCl fisiologis hingga volume 4 ml.

### Pembuatan larutan uji

Larutan uji dengan dosis 100 mg/kg BB dibuat dengan cara mensuspensikan 2 mg subfraksi etil asetat herba meniran dengan 0,1 ml tween 80. Kemudian gerus homogen dan cukupkan volume dengan aquadest sampai 0,2 ml.

### Sensitisasi hewan

Mencit disensitisasi (diberi antigen) dengan 0,2 ml suspensi eritrosit kambing 5% pada hari 1 secara intra peritoneal, kemudian lakukan pembosteran dengan 0,1 ml suspensi eritrosit kambing 5% secara subkutan pada hari ke-7. Suspensi dari subfraksi diberikan pada hari ke-8 sampai hari ke-14 secara oral dengan dosis 100 mg/kg BB.

### Penentuan Titer Antibodi

Pada hari ke-15 mencit dibunuh, ambil darah dengan cara memotong vena bagian leher, biarkan selama 30 menit, lalu

disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Ambil bagian serumnya, siapkan 10 tabung reaksi, masukkan larutan NaCl fisiologis 0,2 ml pada semua tabung. Pada tabung pertama ditambahkan 0,2 ml serum, kocok sampai homogen. Pindahkan 0,2 ml larutan tabung pertama kedalam tabung kedua kemudian kocok dan pipet 0,2 ml larutan tabung kedua, pindahkan kedalam tabung ketiga. Lakukan ini sampai tabung kesepuluh, pada tabung 10 buang 0,2 ml. sehingga hasil pengenceran dari serum yaitu, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024. Masukkan 0,1 ml suspensi eritrosit kambing 5% ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut. Sentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm, amati gumpalan yang terjadi.

Angka titer ditentukan dengan pengenceran tertinggi dari serum mencit yang masih dapat beraglutinasi dengan eritrosit kambing.

### **Menghitung Jumlah Sel Leukosit dari Hapusan Darah**

Darah segar diteteskan pada gelas objek (1 tetes) tipiskan dan ratakan dengan gelas objek lain sehingga diperoleh lapisan darah yang homogen (hapusan darah), lalu keringkan. Setelah kering ditetesi dengan metanol sehingga menutupi seluruh hapusan darah, biarkan 5 menit. Tambahkan satu tetes giemsa yang telah diencerkan dalam aquades (1:20), biarkan selama 20 menit. Cuci dengan aquadest, setelah kering lihat dibawah mikroskop. Hitung jumlah sel eusinofil, netrofil batang, netrofil segmen, limfosit, dan monosit pada perbesaran 1000 X dengan menggunakan minyak emersi.

### **Analisis Data**

Data hasil penelitian ini diolah secara statistik dengan menggunakan ANOVA satu arah, dan dilanjutkan dengan uji berjarak Duncan (*Duncan Multiple Range Test*).

## **HASIL DAN DISKUSI**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan meniran. Bagian tumbuhan meniran yang digunakan adalah seluruh bagian tumbuhan kecuali akarnya.

Sampel meniran segar dikeringkan selama 3 hari sehingga sampel menjadi kering, kemudian sampel meniran yang telah kering tersebut digrinder sampai menjadi halus. Sampel tersebut kemudian diekstraksi dengan menggunakan metoda maserasi. Dengan cara ini sampel dapat diekstraksi dalam jumlah yang lebih banyak, tidak memerlukan peralatan khusus, pengerjaannya mudah dan sederhana, serta tanpa pemanasan sehingga perubahan kimia terhadap senyawa-senyawa tertentu dapat dihindari. Dengan demikian, metoda ini baik untuk sampel dengan zat aktif yang tahan pemanasan maupun zat aktif yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat (Anonim, 2009; Arvind, Ram, Anil, Madan, and

Suman, 2006). Sampel dimaserasi selama lima hari dengan tiga kali pengulangan agar zat aktif tertarik secara maksimal. Rendaman sampel dikocok tiga sampai empat kali sehari agar pelarut mengalir berulang-ulang masuk ke seluruh permukaan sampel, sehingga bahan ekstraktif lebih cepat berpindah ke dalam pelarut.

Maserat yang diperoleh diuapkan dengan destilasi vakum untuk mengurangi tekanan udara pada permukaan, sehingga akan menurunkan tekanan uap pelarut yang selanjutnya akan menurunkan titik didihnya. Hal ini dapat mengurangi kemungkinan terurainya senyawa yang tidak tahan pemanasan (Depkes RI, 2000). Selanjutnya sampel dipekatkan dengan menggunakan *rotari evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental meniran diperoleh sebanyak 178 gram.

Ekstrak kental tersebut selanjutnya diisolasi menggunakan kromatografi kolom flash. Sebelumnya dibuat sediaan preabsorpsi dengan cara melarutkan 80 g ekstrak kental

yang etil asetat, dan ditambah dengan 80 g silika gel, kemudian dirotary menggunakan *rotary evaporator* sampai seluruh pelarut kering. Setelah itu masukkan silika gel 100 g kedalam kolom dan dibasahi dengan n-heksan yang bertujuan agar permukaan silika menjadi datar dan padat. Lalu sediaan preabsorpsi dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam kolom agar permukaannya datar dan tidak berongga. Kemudian dilakukan elusi menggunakan kombinasi pelarut n-heksan dan etil asetat (Putra, 2010; Nayak, Upadhyay, Dwidevi, Rao, 2010). Isolasi dilakukan menurut metoda SGP (*Step Gradien Polarity*) menggunakan eluen n-heksan 100 %, H:E (19:1), H:E (9:1), H:E (4:1), H:E (2:1), H:E (1:1), H:E (1:4), Etil asetat 100%.

Subfraksi dari tumbuhan meniran diuji dalam dosis 100 mg/ kgBB. Dosis 100 mg/ KgBB dipilih karena pada uji pendahuluan terhadap 7 ekor mencit putih jantan, dosis ini tidak memperlihatkan efek toksik terhadap mencit. Karena sifat subfraksi meniran yang sukar larut dalam cairan pembawa, maka larutan uji dibuat dengan menambahkan *suspending agent* tween 80 sehingga dihasilkan campuran yang homogen. *Suspending agent* ini berfungsi menurunkan tegangan permukaan bahan dengan air (Putra, 2012).

Setelah dilakukan isolasi didapat hasil dari tiap subfraksi sebagai berikut:

1. Sub fraksi n- heksan sebanyak 89,5 g
2. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (19:1) sebanyak 8,5 g
3. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (9:1) sebanyak 4 g
4. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (4:1) sebanyak 4,2 g
5. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (2:1) sebanyak 7,6 g
6. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (1:1) sebanyak 9,7 g
7. Sub fraksi n-heksan : etil asetat (1:4) sebanyak 8,3 g
8. Sub fraksi etil asetat sebanyak 4,5 g

Penentuan titer antibodi dilakukan dengan metoda hemaaglutinasi, metoda ini digunakan karena murah dan waktu yang dibutuhkan untuk mengetahui angka titernya relatif singkat. Angka titer ditentukan pada pengenceran tertinggi dari serum mencit yang masih dapat beraglutinasi dengan sel darah merah kambing (Subowo, 1993). Angka titer dapat dicari dengan rumus  $2^{\log}$  pengenceran. Aglutinasi yang terjadi dipengaruhi oleh komplemen. Antigen yang digunakan eritrosit kambing 5% yang diinjeksikan pertama kali secara intra peritorial dengan tujuan agar terbentuk antibodi spesifik terhadap atigen dalam tubuh mencit dan terbentuk pula sel memori yang akan mengenal antigen tersebut pada pemaparan berikutnya (Suhatri., Aldi. Y. 2010).

Pemilihan eritrosit kambing 5% sebagai antigen terbukti dapat meningkatkan jumlah antibodi dari serum mencit. Setelah pemberian suspensi eritrosit kambing 5% dan pemberian beberapa subfraksi meniran didapat hasil bahwa subfraksi meniran dapat meningkatkan produksi antibodi dan subfraksi yang memberikan angka titer paling tinggi adalah subfraksi n-heksan – etil asetat (4:1) yaitu dengan angka titer 8.67. diikuti oleh subfraksi n- heksan – etil asetat (9:1) dengan angka titer 8.33. Angka titer paling rendah ditunjukkan oleh subfraksi n-heksan : etil asetat (1:4) dan subfraksi etil asetat dengan angka titer sama yaitu 4. Sedangkan untuk kontrol negatif dan kontrol positif didapat angka titer masing-masing 1,67 dan 3,33.

Hasil uji statistik analisa varian satu arah dan dilanjutkan dengan uji berjarak memperlihatkan bahwa subfraksi meniran memberikan efek secara bermakna terhadap produksi antibodi. Subfraksi yang menunjukkan pengaruh paling tinggi adalah subfraksi n-heksan : etil asetat (4:1).

Tabel I. Hasil penentuan Titer Antibodi Dari Serum Mencit Putih Jantan Setelah Diinduksi Dengan Eritrosit Kambing 5% dan Pemberian Subfraksi dari Meniran

No	1		2		3		Rata-rata
	Pengenceran	Angka titer	pengenceran	Angka titer	pengenceran	Angka titer	
Kontrol -	1/2	1	¼	2	1/4	2	1,67
Kontrol +	1/16	4	1/8	3	1/8	3	3,33
I	1/32	5	1/64	6	1/32	5	5,33
II	1/64	6	1/128	7	1/64	6	6,33
III	1/512	9	1/256	8	1/256	8	8,33
IV	1/256	8	1/512	9	1/512	9	8,67
V	1/128	7	1/64	6	1/256	8	7
VI	1/128	7	1/256	8	1/32	5	6,67
VII	1/32	5	1/16	4	1/8	3	4
VIII	1/64	6	1/8	3	1/8	3	4

Pada perhitungan jumlah sel leukosit digunakan metoda hapusan darah. Sel leukosit yang diamati adalah sel eusinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen, sel limfosit, dan sel monosit. Sedangkan sel basofil tidak tampak. Hasil dari perhitungan jumlah sel leukosit didapatkan bahwa sel eusinofil terdapat dalam jumlah yang sangat kecil dalam tubuh. Sedikitnya jumlah sel eusinofil ini menyebabkan kecilnya aktifitas fagositosis dari sel tersebut. Sedangkan

jumlah sel neutrofil segmen lebih banyak dibandingkan dengan sel neutrofil batang. Sel leukosit yang paling banyak jumlahnya adalah sel limfosit.

Dari hasil uji statistik analisa varian satu arah terlihat bahwa subfraksi ekstrak etil asetat dari herba meniran tidak memberikan efek secara bermakna terhadap sel limfosit, sel eusinofil, sel neutrofil batang, sel neutrofil segmen dan sel monosit.

Tabel II. Hasil Perhitungan Sel Leukosit Darah Mencit Putih Jantan Setelah Diinduksi Dengan Eritrosit Kambing 5% dan Pemberian Subfraksi dari Meniran

Kelompok perlakuan	Persen sel leukosit					
	no	eosinofil	Neutrofil batang	Neutrofil segmen	limfosit	Monosit
Kontrol -	1	2	7	27	54	10
	2	2	9	24	56	9
	3	1	8	25	57	9
	Rata-rata	1,67	8	25,33	55,67	9,33
	±SD	0,57	1	1,52	1,52	0,57
Kontrol +	1	2	8	25	55	10
	2	3	7	28	53	9
	3	2	9	28	53	8
	Rata-rata	2,33	8	27	53,67	9
	±SD	0,57	1	1,73	1,15	1
I	1	2	7	22	55	9
	2	3	8	24	53	12



	3	2	11	22	55	10
	Rata-rata	2,33	8,66	22,66	54,33	10,33
	±SD	0,57	2,08	1,15	1,15	1,52
II	1	2	9	26	53	10
	2	4	10	23	54	9
	3	2	13	22	56	7
	Rata-rata	2,67	10,67	23,66	54,33	8,66
	±SD	1,15	2,08	2,08	1,52	1,52
III	1	2	9	25	52	12
	2	3	10	23	55	9
	3	3	12	26	51	8
	Rata-rata	2,67	10,33	24,67	52,66	9,67
	±SD	0,57	1,52	1,52	2,08	2,08
IV	1	2	9	25	56	8
	2	3	11	25	51	10
	3	3	8	27	53	9
	Rata-rata	2,67	9,33	25,67	53,33	9
	±SD	0,57	1,52	1,15	2,511	1
V	1	3	10	23	56	8
	2	2	10	26	52	10
	3	3	8	22	56	11
	Rata-rata	2,67	9,33	23,67	54,67	9,67
	SD	0,577	1,15	2,08	2,30	1,52
VI	1	2	9	26	53	10
	2	3	8	24	56	9
	3	2	12	23	52	11
	Rata-rata	2,33	9,67	24,33	53,67	10
	±SD	0,57	2,08	1,52	2,08	1
VII	1	3	11	26	51	9
	2	2	9	23	56	10
	3	2	12	26	52	8
	Rata-rata	2,33	10,66	25	53	9
	±SD	0,57	1,52	1,73	2,61	1
VIII	1	2	11	23	53	11
	2	3	10	24	53	10
	3	3	9	24	56	8
	Rata-rata	2,67	10	23,66	54	9,67
	±SD	0,57	1	0,57	1,73	1,52

Dari parameter diatas yaitu uji titer antibodi dan perhitungan peningkatan jumlah sel leukosit dapat disimpulkan bahwa

subfraksi dari tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terbukti dapat meningkatkan produksi antibodi.

## KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diperoleh kesimpulan bahwa pemberian subfraksi ekstrak etil asetat dengan dosis 100 mg/KgBB dari herba meniran dapat meningkatkan titer antibodi, namun tidak

berpengaruh terhadap jumlah sel leukosit dan subfraksi yang menunjukkan efek imunomodulator paling tinggi adalah subfraksi dengan perbandingan pelarut n-heksan : etil asetat (4:1).

## DAFTAR PUSTAKA

- Anief. M. 1995. *Ilmu Meracik Obat, Teori dan Praktik*, Edisi V. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Annamalai, A., Lakshmi, P.V.T. 2009. HPTLC and HPLC Analysis of Bioactive Phyllanthin from Different Organ of *Phyllanthus amarus*. *Asian Journal of Biotechnology* ISSN 1996-0700 : 1-9
- Anonim. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste, Italy : ICS-UNIDO
- Anonim. *Phyllanthus amarus*. *Natural Remedies Research Centre :1-32*
- Arvind, K.T., Ram K.V., Anil K.G., Madan M.G and Suman P.S. 2006. Quantitative Determination of Phyllanthin and Hypophyllanthin in Phyllanthus. Species by High-performance Thin Layer Chromatography. *Phytochem. Anal.* 17: 394–397
- Bellanti, J.A. 1993. *Immunologi III*. Washington. D.C: Georgetown University School of Medicine
- Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I. 2009. *Imunologi Dasar*, Edisi VIII. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- CCRAS. 2009. *Marker Compounds of Select Ayurvedic Drugs*. New Delhi: CCRAS
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (Edisi I). Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Halim, Z. 2010. *Acute Toxicity Determination Of Phyllanthus Niruri*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- Hariana, A. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jayasinha. P. 1999. Pitakawa, a Literature Survey Medicinal and Aromatic Plant Series, No. 10
- Kardinan, A., Kusuma, F.R. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta : Agromedia Pustaka
- Kasthuri, J., Kathiravan, K., Rajendiran, N. 2009. Phyllanthin-Assisted Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles: A Novel Biological Approach. *J Nanopart Res*, 2009 11:1075–1085
- Khan S., Al-Qurainy1 F., Ram M., Ahmad S., Abdin M.Z. 2010. Phyllanthin Biosynthesis in *Phyllanthus amarus* : Schum and Thonn Growing at Different Altitudes. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(1) : 041-048
- Kindt, T.J., Goldsby, R.A. and Osborn, B.A. 2007. *Kuby Immunology*. New York: WH Freeman and Company.
- Kresno, S.B. 2001. *Imunologi: diagnosis dan prosedur laboratorium*. Edisi keempat. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Mackinnon, L.T. 1999. *Advances in Exercise Immunology*. United States: Human Kinetics.
- Murugaiyah, V. 2008. *Phytochemical, Pharmacological and Pharmacokinetic Studies of Phyllanthus niruri Linn. Lignans as Potential Antihyperuricemic agents* (Thesis). George Town: Universiti Sains Malaysia
- Murugaiyah, V., Chan Kit-ham. 2007. A Method for Determination of Four Lignans in *Phyllanthus niruri* by a Simple High Performance Liquid Chromatography (HPTLC) Method with Fluorescence Detection. *J. Chromatography*, 2007, 1154: 198-204
- Nayak, P.S., Upadhyay, A., Dwivedi, S.K., Rao, S. 2010. Quantitative Determination of Phyllanthin in *Phyllanthus amarus* by High-Performance Thin Layer Chromatography. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 9, núm. 5, 2010: 353-358
- Putra, D.P. 2010. *Isolasi senyawa filantin dari daun meniran (Phyllanthus niruri Linn)*. (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah
- Putra, I A. 2012. *Uji Aktivitas Imunosupresan Dari Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (Thyponium Flagelliforme (Lodd) Bl) Terhadap Mencit Putih Jantan* (Skripsi). Padang : Fakultas Farmasi Universitas Andalas
- Subowo 1993. *Imunobiologi*. Bandung: Penerbit Angkasa
- Suhatri., Aldi. Y. 2010. Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* linn.) Terhadap Titer Antibodi dan Jumlah Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan. *Scientia Vol 1 no 1 2010* : 26-33
- Radji, M. 2010. *Imunologi dan Virologi*. Edisi I. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Taylor, L. 2003. Technical Data Report for CHANCA PIEDRA “Stone Breaker” (*Phyllanthus niruri* ) preprinted from Herbal Secrets of the Rainforest, 2nd edition. Sage Press, Inc.
- Thakur, J.S., Agarwal, R.K., Kharya, M.D. 2011. Immobilization Mediated Enhancement of Phyllanthin and Hypophyllanthin from *Phyllanthus amarus*. *Biomedical and Biotechnology IPCBEE*, vol.16: 107-113
- Thakur, J. S. , Kharya, M.D. 2011. Enhancing Hepatoprotective Bioactive's from *Phyllanthus Amarus* Through Immobilization. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 1, No. 4, November 2011 : 302-306

## **EVALUASI PENGGUNAAN KOMBINASI ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR DENGAN FUROSEMID TERHADAP FUNGSI GINJAL PASIEN GAGAL JANTUNG KONGESTIF DI RSUP DR. M. DJAMIL PADANG**

**Surya Dharma\*, Sri Oktavia\* dan Akmal, M. Hanif \*\***

\*Fakultas Farmasi Universitas Andalas

\*\* Bagian Penyakit Dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang

### **ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian mengenai evaluasi penggunaan kombinasi *angiotensin converting enzyme* inhibitor dengan furosemid terhadap fungsi ginjal pasien gagal jantung kongestif di RSUP DR. M. Djamil Padang. Penelitian ini bersifat prospektif terhadap 46 pasien dan dikelompokkan berdasarkan fungsi ginjal, 30 pasien dengan fungsi ginjal terganggu dan 16 pasien dengan fungsi ginjal normal. Penelitian dilakukan dengan mengamati fungsi ginjal pasien sebelum dan setelah mendapat terapi kombinasi *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI) dengan furosemid. Parameter yang diamati adalah nilai ureum serum, bersihan kreatinin, dan kalium serum. Analisa dilakukan menggunakan piranti lunak pengolah data statistik dengan metode uji peringkat bertanda Wilcoxon untuk melihat perubahan fungsi ginjal sebelum dan sesudah terapi dan dilanjutkan dengan uji t sampel independent untuk melihat perbandingan perubahan fungsi ginjal antara pasien fungsi ginjal terganggu dengan pasien fungsi ginjal normal. Hasil penelitian menunjukkan terjadi perbaikan nilai bersihan kreatinin pada kedua kelompok pasien dengan rata-rata perbaikan pada pasien dengan fungsi ginjal normal lebih tinggi dibanding pasien dengan fungsi ginjal terganggu.

**Kata kunci:** ACEI, furosemid, CHF dan fungsi ginjal.

### **PENDAHULUAN**

Gagal jantung kongestif atau Congestive Heart Failure (CHF) merupakan sindrom yang kompleks yang dapat mengganggu kemampuan jantung untuk melaksanakan fungsi sebagai pompa untuk mendukung sirkulasi fisiologis. Sindrom CHF ditandai dengan gejala seperti sesak napas, kelelahan, dan tanda-tanda seperti retensi cairan (Dipiro, 2008).

Gagal jantung kongestif (CHF) merupakan masalah kesehatan dengan angka kejadian yang tinggi terutama pada penderita lanjut usia. Dari hasil pencatatan dan pelaporan rumah sakit di Indonesia pada tahun 2007 menunjukkan bahwa gagal jantung merupakan kasus ketiga terbanyak dari seluruh jenis penyakit jantung dengan jumlah kasus kunjungan rawat jalan

sebanyak 38.438 orang dan kunjungan rawat inap sebanyak 18.585 orang (Depkes, 2009).

Terapi lini pertama untuk pasien CHF adalah Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor (ACEI) dan diuretik. ACEI pada gagal jantung ditujukan untuk semua pasien CHF karena tidak berfungsinya sistolik pada ventrikel kiri (*left ventricular systolic dysfunction*). Disamping itu, ACEI juga digunakan untuk mengontrol tekanan darah pasien, sedangkan diuretik harus secara rutin digunakan untuk menghilangkan gejala kongestif dan retensi cairan pada pasien gagal jantung dengan titrasi dosis sesuai kebutuhan (NICE guideline, 2003). Penggunaan ACEI ditoleransi dengan baik, tapi bukan berarti tanpa efek samping. Salah satu efek samping ACEI yaitu meningkatkan kadar kalium dalam darah. Walaupun

peningkatannya kecil, jika pasien diterapi dengan thiazid atau spironolakton, hiperkalemia bisa terjadi. Jika terapi ACEI harus dikombinasi dengan diuretik, maka diuretik loop seperti furosemid menjadi pilihan dibandingkan dengan diuretik thiazid dan spironolakton (Dipiro, 2008).

Insidensi obat-obat yang dapat menginduksi kerusakan ginjal terus meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah obat yang ada saat ini. ACEI dan furosemid merupakan beberapa contoh dari banyak obat yang berkontribusi menimbulkan kerusakan ginjal. Sindrom yang biasa terjadi yaitu gagal ginjal akut (GGA) yang berkaitan dengan aksi angiotensin II pada arteri aferen untuk menjaga laju filtrasi glomerulus (GFR) pada tekanan perfusi yang rendah (Sing, *et al.*, 2003). Penurunan GFR ini menyebabkan peningkatan nilai kreatinin serum yang merupakan salah satu dari beberapa parameter kerusakan ginjal (Dipiro, 2008).

Sebelum menggunakan obat-obat golongan ACEI dan furosemid, disarankan untuk melakukan pemeriksaan terhadap fungsi ginjal dan elektrolit. Selain itu, selama pengobatan harus dilakukan pemantauan terhadap efek samping ACEI. Kondisi ini lebih sering terjadi pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal dan untuk itu perlu dilakukan penyesuaian dosis ACEI. Meskipun ACEI memiliki peran khusus dalam beberapa bentuk penyakit ginjal, termasuk penyakit ginjal kronis, namun ACEI kadang-kadang menyebabkan gangguan fungsi ginjal yang dapat berlanjut dan menjadi parah. Seorang klinisi harus terlibat jika fungsi ginjal secara signifikan berkurang sebagai akibat dari pengobatan

dengan ACEI (BNF, 2009). Selanjutnya, penggunaan furosemid perlu diperhatikan pada pasien yang mengalami gangguan fungsi ginjal karena furosemid merupakan salah satu obat yang dapat memperberat kerja ginjal dimana hampir 80% dieliminasi di ginjal (Anderson, *et al.*, 2002).

Para ahli menyarankan untuk melihat kejadian efek samping terhadap pasien secara spesifik, apalagi disertai dengan penggunaan diuretik kuat dosis tinggi. Obat-obat yang diekskresikan sebagian besar melalui ginjal, akan terakumulasi dengan adanya gangguan fungsi ginjal dan dapat menimbulkan efek toksik atau memperburuk keadaan ginjal pasien (Shargel, 2005). Kimia darah (urea, kreatinin, dan elektrolit) harus diperiksa sebelum terapi, satu minggu sampai dua minggu setelah terapi awal, dan di setiap titrasi dosis (Wemerec, 2008).

Pada beberapa studi, juga telah dilaporkan terjadinya interaksi antara ACEI dengan furosemid. Kegagalan ginjal dan kejadian gagal ginjal akut dapat timbul dari penggunaan kedua obat ini secara bersamaan (Baxter, 2008). Oleh sebab itu, dirasa perlu mengamati fungsi ginjal pasien pada penggunaan kombinasi obat ini.

Dari pembahasan di atas, peneliti ingin mengamati penggunaan kombinasi ACEI dengan furosemid terhadap fungsi ginjal pada pasien CHF yang mengalami gangguan fungsi ginjal dan kemudian dibandingkan dengan pasien CHF yang memiliki fungsi ginjal normal di bangsal interne RSUP Dr. M.Djamil Padang. Penelitian ini merupakan penelitian prospektif, yaitu dengan mengamati dan mengikuti perkembangan pasien selama masa rawatan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di bangsal ilmu penyakit dalam RSUP. Dr. M. Djamil Padang. Waktu penelitian dilakukan selama bulan April-Juni 2013.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan desain studi *longitudinal*. Longitudinal merupakan suatu desain

penelitian dengan melakukan monitoring/pemantauan terhadap terapi obat yang digunakan dan perbaikan klinis yang ditunjukkan oleh pasien setiap harinya. Data yang diperoleh kemudian dianalisa secara deskriptif dan statistik menggunakan piranti lunak (*software*) pengolah data statistik.

Penentuan sampel mempertimbangkan kriteria-kriteria tertentu yang telah dibuat terhadap obyek yang sesuai dengan tujuan penelitian. Sampel pada penelitian ini adalah semua populasi yang memenuhi kriteria dalam penelitian ini.

#### *Kriteria Inklusi*

Semua pasien rawat inap di bangsal penyakit dalam RSUP. Dr. M. Djamil Padang yang didiagnosa gagal jantung kelas fungsional II dan III serta mendapatkan terapi obat golongan ACEI dan furosemid.

#### *Kriteria Eksklusi*

- Pasien dengan umur < 20 tahun
- Pasien tidak lagi diterapi dengan ACEI dan furosemid (karena alergi atau *adverse effect*).
- Pasien pulang atas permintaan sendiri (pulang paksa).
- Pasien meninggal
- Pasien yang mendapat terapi obat lain yang berpotensi kuat menimbulkan kerusakan ginjal (nefrotoksik).

## HASIL DAN DISKUSI

Selama periode bulan April sampai Juni 2013, terdapat 91 orang pasien yang menderita gagal jantung kongestif. Dari jumlah tersebut, terdapat 59 orang yang mendapat terapi kombinasi ACEI dengan furosemid. Dengan memperhatikan kriteria pemilihan sampel, hanya 46 pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan 13 pasien lainnya memiliki satu atau lebih dari kriteria eksklusi yang telah ditetapkan pada penelitian ini.

Berdasarkan jenis kelamin, pasien laki-laki berjumlah 32 orang (69,56%) dan perempuan 14 orang (30,43%). Faktor resiko gagal jantung kongestif pada perempuan cenderung lebih rendah dibanding laki-laki karena perempuan memiliki hormon estrogen yang dapat menghasilkan *high density lipoprotein* (HDL) namun pada kondisi menurunnya atau hilangnya kadar estrogen pada perempuan pada saat *menopause* menyebabkan peningkatan kadar trigliserida dan penurunan lemak total, sehingga wanita menopause lebih beresiko terkena penyakit jantung (Tatsanavivat, 1998).

Umur berpengaruh terhadap kejadian gagal jantung walaupun CHF dapat dialami orang dari berbagai golongan umur tetapi semakin tua seseorang maka akan semakin besar kemungkinan menderita CHF karena kekuatan pembuluh darah tidak seelastis saat muda dan juga timbulnya penyakit jantung yang lain pada usia lanjut yang merupakan

faktor resiko CHF. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh data berdasarkan rentang usia yaitu usia 25-40 tahun 5 orang, usia 41-55 tahun 13 orang, usia 56-70 tahun 23 orang, dan usia  $\geq 71$  tahun sebanyak 5 orang.

Pada penelitian ini, pasien gagal jantung kongestif yang mendapat terapi dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan fungsi ginjal yaitu pasien dengan fungsi ginjal normal dan pasien dengan gangguan fungsi ginjal. Dari 46 pasien, didapatkan data pasien dengan fungsi ginjal normal sebanyak 34,78% (16 orang), sedangkan pasien dengan gangguan fungsi ginjal sebanyak 65,22% (30 orang).

Masing-masing kelompok data, dilakukan analisa terhadap perubahan fungsi ginjal setelah mendapat terapi obat dengan mengamati parameter fungsi ginjal diantaranya ureum serum dan kreatinin serum (Roesner & Bolton, 2006). Nilai kreatinin serum dikonversi menjadi bentuk nilai klirens kreatinin dengan menggunakan persamaan Cockcroft and Gault (Shargel, 2005). Selain itu, kadar kalium juga diamati untuk melihat adanya kemungkinan timbulnya efek samping ACEI berupa retensi kalium. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan *software* pengolah data statistik dengan metode uji peringkat bertanda Wilcoxon. Rata-rata perubahan yang terjadi antara kedua kelompok data

dibandingkan dengan menggunakan uji t sampel independent.

Pada analisa fungsi ginjal dengan melihat perubahan nilai bersihan kreatinin, ureum serum dan kalium serum sebelum dan sesudah terapi menggunakan uji peringkat bertanda wilcoxon, tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap ketiga parameter tersebut. Dari hasil diatas dapat dilihat bahwa penggunaan kombinasi ACEI dan furosemid tidak memperburuk fungsi ginjal pasien gagal jantung kongestif baik dengan fungsi ginjal normal maupun dengan fungsi ginjal terganggu.

Selanjutnya, dilakukan uji t sampel independent terhadap nilai klirens kreatinin, ureum serum, dan kalium serum dengan membandingkan nilai rata-rata selisih perubahan sebelum dengan sesudah terapi. Analisa nilai perubahan ureum serum dan kalium serum, tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan. Namun, pada analisa terhadap nilai klirens kreatinin, didapatkan nilai signifikansi 0,043 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan nilai klirens kreatinin sebelum dan sesudah terapi antara pasien fungsi ginjal terganggu dengan pasien fungsi ginjal normal. Perbedaan yang signifikan tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nilai klirens kreatinin pada pasien fungsi ginjal terganggu dengan pasien fungsi ginjal normal. Perubahan rata-rata klirens kreatinin pada pasien fungsi ginjal terganggu sebesar 8,95 ml/menit sedangkan perubahan rata-rata klirens kreatinin pada fungsi ginjal normal lebih tinggi yaitu 13,05 ml/menit. Hal ini menggambarkan bahwa pada kasus ini, penggunaan kombinasi ACEI dan furosemid memiliki sifat renoprotektif (memperbaiki fungsi ginjal).

Penilaian terhadap penggunaan furosemid bisa dilakukan dengan menghitung selisih volume cairan input dan output pasien. Obat akan efektif apabila selisih antara volume cairan yang dikonsumsi (*input* cairan) dengan volume cairan yang dikeluarkan (*output* cairan) memiliki selisih 0,5 ml/kgBB/jam (Staegemann, 2005).

Menurut Jurnal Endokrin, furosemid dengan dosis tinggi akan meningkatkan volume urin sekitar 270 – 910 ml/hari dengan median 400 ml. Eksresi dari natrium meningkat dari 25 – 118 mmol dengan median 54 mmol (Rudolf, 2000).

Pada penelitian yang dilakukan, dari 30 pasien gagal jantung kongestif dengan gangguan fungsi ginjal, hanya 15 orang pasien yang dapat dinilai keseimbangan cairannya dimana hanya 4 orang (26,67%) memiliki selisih input dan output cairan yang  $\geq 400$  ml dan 11 orang (73,33%) yang memiliki selisih  $< 400$  ml.

Dibandingkan dengan pasien yang ginjalnya normal, dari 16 pasien hanya 7 10 orang yang bisa dinilai keseimbangan cairannya dengan hasil 7 orang (70%) memiliki selisih input dan output  $\geq 400$  ml dan hanya 3 orang (30%) yang memiliki selisih input dan output  $< 400$  ml. Jika dibandingkan hasil kedua kelompok ini, terlihat perbedaan dimana efektivitas lebih tinggi pada pasien fungsi ginjal normal dari pada pasien dengan fungsi ginjal terganggu. Disamping itu, jika dibandingkan volume cairan masing-masing kelompok, terlihat bahwa selisih cairan input dan output menunjukkan perbedaan yang cukup besar, dimana pasien dengan fungsi ginjal normal memiliki selisih volume input dan output yang lebih besar dibandingkan dengan selisih volume input dan output pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal. Hal ini disebabkan oleh kerusakan ginjal yang menyebabkan berkurangnya kemampuan ginjal mengekskresikan urin dan sebaliknya ginjal normal masih memiliki kemampuan yang baik dalam mengekskresikan urin (Guyton & Hall, 1997).

Dua atau lebih obat yang diberikan pada waktu yang sama dapat berubah efeknya secara tidak langsung atau dapat berinteraksi. Interaksi bisa bersifat potensiasi atau antagonis efek satu obat oleh obat lainnya, atau adakalanya beberapa efek lainnya (BNF 58, 2009).

Dari penelitian ini, ditemukan beberapa interaksi obat dari terapi yang didapatkan pasien. Interaksi yang terjadi

memiliki level signifikansi sedang yang berarti bahwa penggunaan obat-obat tersebut secara bersamaan bisa dilanjutkan dengan tetap memonitor kondisi klinik dan respon terapi

pasien. Jika terjadi efek dari interaksi tersebut, disarankan untuk mengganti salah satu dari obat yang berinteraksi tersebut.

## KESIMPULAN

Penggunaan kombinasi ACEI dengan furosemid tidak memperburuk fungsi ginjal pasien gagal jantung yang terlihat dari tidak adanya perbedaan yang signifikan pada nilai ureum, klirens kreatinin dan nilai kalium sebelum dan sesudah terapi kombinasi ACE Inhibitor dengan furosemid pada pasien gagal jantung kongestif dengan fungsi ginjal normal.

Penggunaan kombinasi ACEI dengan furosemid pada pasien gagal jantung

kongestif ginjal normal dengan ginjal terganggu dapat memperbaiki fungsi ginjal dengan meningkatnya nilai klirens kreatinin pada kedua kelompok tersebut. Perubahan rata-rata klirens kreatinin sebelum dan sesudah terapi pada pasien fungsi ginjal terganggu sebesar 8,95 ml/menit sedangkan perubahan rata-rata klirens kreatinin pada fungsi ginjal normal lebih tinggi yaitu 13,05 ml/menit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, SG & Rennke, HG. 2000. Therapeutic Advantage of Converting Enzyme Inhibitors In Arresting Progressive Renal Disease Associated With Systemic Hypertension In Rat. *J Clin Invest.* 77(6) : 1993-2000
- Barnes, S., Cowie, M., Mant, J., Robert, J., Saikh, H., Wiliam, S. et al. 2003. *NICE guideline : Chronic heart failure*. Sarum ColourView. Salisbury, Wiltshire
- Baxter, K. 2008. *Stockley's Drug Interaction eight edition*. London. Pharmaceutical Press
- British National Formulary. 2009. Cardiovascular System. London : BMJ Group and RPS Publishing
- Depkes RI. 2009. *Sistem Informasi Rumah Sakit*. Jakarta : Depkes RI
- Dipiro, JT. 2008. *Pharmacotherapy. A Pathophysiologic approach*. 7<sup>th</sup> ed. Mc.GrawHills. New York.
- Guyton, AC & Hall. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Ed ke-9. Jakarta : EGC
- Rosner, M & Bolton, W. 2006. Renal Function Testing. *American Journal of Kidney Diseases*, Vol 47, No 1 (January), 174-183
- Rudolf, Olden. 2000. *Acute effect of high dose on residual renal function in CAPD patients*. *J Clin Endocrinol Metab* :339-347
- Shargel, L & Yu, AB. 2005. *Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetic*. Appleton-Century-Crofts
- Singh, N.P., Ganguli, A., & Prakash, A. 2003. Drug-induced Kidney Disease. *JAPI* 51. 970-980
- Staegemann, N. 2005. *Torsemide versus furosemide after continuous renal replacement therapy due to acute renal failure in cardiac surgery patients*. Department of anesthesiology and intensive care, University Hospital Charite, Berlin, Germany. 27(4) : 385-92
- Tatsanavivat P. 1998. *Prevalence of coronary heart disease and major cardiovascular Risk Factor in Thailand*. *International Journal of Epidemiology*. 27: 405-409
- Weish mendicine research centre. 2008. *Treatment of chronic heart failure*. Universitas hospital Landough: Penarth



## STUDI PREFORMULASI PENINGKATAN SIFAT KELARUTAN SULFAMETOKSAZOL MELALUI PEMBENTUKAN KOMPLEKS INKLUSI DENGAN $\beta$ -SIKLODEKSTRIN MENGGUNAKAN METODE *CO-GRINDING*

Syofyan\*, Rizka Yolanda, Erizal

\*)Fakultas Farmasi, Universitas Andalas,  
No. Fax 0751-777057, email: sdsyofyan@yahoo.com

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang studi preformulasi peningkatan sifat kelarutan sulfametoksazol. Penelitian dilakukan melalui pembentukan kompleks inklusi dengan  $\beta$ -Siklodekstrin menggunakan metode *Co-Grinding*. Kompleks inklusi sulfametoksazol-  $\beta$ -siklodekstrin yang terbentuk dikarakterisasi dengan difraksi sinar-X, spektrofotometer IR dan uji disolusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari difraktogram difaksi sinar-X menunjukkan terbentuknya pola amorf dan terjadi penurunan intensitas puncak difraktogram yang sangat tajam jika dibandingkan dengan sulfametoksazol murni. Hilangnya sebagian puncak sulfametoksazol dan pergeseran puncak sulfametoksazol pada spektrogram IR menunjukkan bahwa sulfametoksazol terkompleks ke dalam rongga  $\beta$ -siklodekstrin. Sedangkan hasil disolusi menunjukkan terjadi peningkatan persen terdisolusi pada kompleks inklusi dibandingkan sulfametoksazol murni. Jumlah obat terdisolusi dalam waktu 60 menit paling besar diberikan oleh sulfametoksazol -  $\beta$ -siklodekstrin > campuran fisik sulfametoksazol -  $\beta$ -siklodekstrin > sulfametoksazol. Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kompleks inklusi yang terbentuk dapat meningkatkan sifat kelarutan dari sulfametoksazol.

**Kata kunci:** sulfametoksazol, kompleks inklusi, *co-grinding*, uji disolusi

### PENDAHULUAN

Rancangan dari suatu bentuk sediaan obat yang tepat memerlukan pertimbangan karakteristik fisika, kimia dan biologis dari semua bahan-bahan obat dan bahan-bahan farmasetik yang akan digunakan dalam membuat produk obat. Obat dan bahan-bahan farmasetik yang digunakan harus tercampurkan satu sama lainnya untuk menghasilkan suatu produk obat yang stabil, manjur, menarik, mudah dibuat dan aman. Produk harus dibuat di bawah pengontrolan agar memiliki kualitas yang baik dan dikemas dalam wadah yang membantu stabilitas obat.

Dalam hubungan dengan masalah memformulasi suatu zat obat menjadi suatu bentuk sediaan yang tepat, maka sebagai tahap awal dari tiap formulasi yang baru adalah berupa pengkajian untuk mengumpulkan keterangan-keterangan dasar

tentang karakteristik fisikokimia zat obat yang dibuat menjadi bentuk sediaan farmasi tersebut. Pengkajian dasar ini dirangkum dalam suatu penelitian yang disebut dengan *preformulasi* yang dibutuhkan sebelum formulasi produk yang sebenarnya dimulai (Ansel, 1989).

Preformulasi dimulai bila suatu obat yang baru menunjukkan jaminan farmakologis yang cukup dalam model-model hewan untuk menjamin penilaian pada manusia. Pengkajian ini harus berpusat pada sifat-sifat fisikokimia dari senyawa baru yang dapat mempengaruhi penampilan obat dan perkembangan suatu bentuk sediaan yang menunjukkan efikasi (Lachman *et al*, 1989).

Menurut Wells (1988) ada dua sifat dasar zat yang perlu sekali diketahui dalam studi preformulasi yaitu berupa data kelarutan dan konstanta ionisasinya. Data ini

dengan segera menunjukkan kebutuhan dan kemungkinan membuat bentuk yang lebih larut dari obat untuk mengeliminir masalah kelarutan yang berhubungan dengan bioavailabilitas atau ketersediaan hayati yang jelek, terutama bentuk sediaan padat.

Ketersediaan hayati suatu sediaan yang diberikan secara oral tergantung pada beberapa faktor diantaranya adalah laju disolusi, kelarutan dan laju absorpsi dalam saluran cerna. Obat yang diberikan secara oral, akan dilarutkan dalam media berair di saluran cerna untuk diabsorpsi. Perbaikan kelarutan dan kecepatan disolusi obat yang sukar larut merupakan langkah pertama untuk perbaikan ketersediaan hayati (Bekers, 1991; Loftsson & Brewster, 1996).

Untuk meningkatkan kelarutan suatu obat yang sukar larut dalam air, dikembangkan kompleks inklusi padat yang akan lebih cepat larut daripada obat itu sendiri sehingga dapat memperbaiki kecepatan disolusi, absorpsi, ketersediaan hayati, dan stabilitas kimia obat (Loftsson & Brewster, 1996).

Pada kompleks inklusi, molekul obat sebagai molekul *guest* terperangkap di dalam rongga siklodekstrin yang bersifat hidrofobik. Bagian luar siklodekstrin bersifat hidrofilik sehingga mudah larut dalam media air (Frank, 1975).

Kompleks inklusi dibuat dengan metode evaporasi, netralisasi, pengulian, menelan larutan, dan metode penggilingan atau *co-grinding* (Bekers, 1991). *Co-grinding* senyawa obat yang sukar larut air dengan berbagai polimer akan meningkatkan efek solubilisasi dan ketersediaan hayati,

oleh karena modifikasi sifat padatan senyawa obat. Pada saat penggilingan padatan kristalin akan mengalami transformasi menjadi fase amorf dalam rantai-rantai polimer (Friedrich et al., 2005). Jika dibandingkan dengan berbagai teknik peningkatan kelarutan lain, teknik *co-grinding* merupakan cara yang sederhana dan ramah lingkungan karena tidak memerlukan pelarut organik (Garg dan Singh, 2009).

Sulfametoksazol adalah obat golongan sulfonamid yang mempunyai spektrum antibakteri yang luas. Obat ini merupakan antagonis kompetitif PABA sehingga menghambat pembentukan asam folat yang digunakan oleh bakteri untuk sintesis purin dan asam nukleat (Farmakologi dan Terapi Edisi 5, 2007). Sulfametoksazol praktis tidak larut dalam air, dalam eter, dan dalam kloroform; mudah larut dalam aseton, larutan NaOH encer; agak sukar larut dalam etanol (Departemen Kesehatan R.I., 1995).

Oleh karenanya, perlu dilakukan studi preformulasi terhadap sifat kelarutan Sulfametoksazol dengan membentuk kompleks inklusi. Salah satu pengompleks yang biasa dipakai adalah  $\beta$ -siklodekstrin yang terdiri dari tujuh unit glukopiranosida yang dihubungkan oleh ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosida.  $\beta$ -siklodekstrin memiliki kelarutan dalam air yang rendah (1,85 g/100ml).  $\beta$ -siklodekstrin tidak toksik bila diberikan secara oral dan terutama digunakan dalam formulasi tablet dan kapsul (Weller, 2003). Dengan demikian, penggunaan  $\beta$ -siklodekstrin diharapkan dapat membantu sifat kelarutan Sulfametoksazol dengan cara pembentukan kompleks inklusi.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat dan bahan

Peralatan gelas standar laboratorium, timbangan digital (Shimadzu-Aux 220), nanomilling (Fritsch Premium Line Nano Milling Pulverisette 7), spektrofotometer UV (Shimadzu UV-1700), XRD (PAN

Analytical, Netherland), SEM (Jeol, Japan), spektrofotometer IR (Thermo Scientific), dan alat uji disolusi (Hansen Research).

Bahan yang digunakan : Sulfametoksazol,  $\beta$ -siklodekstrin, HCl 0,1 N, etanol 96%, NaOH 0,1 M, dan aquadest.

## 2. Prosedur Penelitian

### a. Pembuatan campuran fisik dan kompleks inklusi sulfametoksazol dengan $\beta$ -siklodekstrin

Tabel 1. Perbandingan campuran fisik dan kompleks inklusi dalam fraksi mol

Bahan	Co- grinding		Campuran fisik
	F1 1 : 1	F2 1 : 2	F1 1 : 1
Sulfametoksazol	2,533 g	2,533 g	2,533 g
$\beta$ - siklodekstrin	11,35 g	22,7 g	11,35 g
Total	13,883 g	25,233 g	13,883

#### Pembuatan campuran fisik

Sulfametoksazol dan  $\beta$ - siklodekstrin ditimbang sesuai dengan formula yang telah ditentukan. Kemudian bahan dihaluskan dengan digerus secara terpisah terlebih dahulu, lalu dicampur dan dihomogenkan selama 30 menit menggunakan mortar dan spatula (Garg, *et al.*, 2009). Campuran fisik yang terbentuk disimpan dalam desikator sebelum digunakan.

#### Pembentukan kompleks inklusi

Sulfametoksazol dan  $\beta$ - siklodekstrin dicampur dengan perbandingan molar 1:1 dan 1:2. Campuran ini kemudian digiling dengan alat nanomilling dengan kecepatan 500 rpm. Waktu penggilingan selama 2 jam. Kemudian zat yang menempel pada dinding nanomilling dan bola-bola penggiling dibersihkan sehingga didapatkan kompleks inklusi sulfametoksazol dengan  $\beta$ -siklodekstrin. Kompleks inklusi yang terbentuk disimpan dalam desikator sebelum digunakan.

### b. Karakterisasi kompleks inklusi sulfametoksazol dan $\beta$ - siklodekstrin

Dilakukan dengan analisis Difraksi Sinar-X, spektrofotometer IR, Scanning Electron Microscopy (SEM)

### c. Penentuan perolehan kembali sulfametoksazol dalam campuran fisik dan kompleks inklusi

Timbang serbuk campuran fisik dan kompleks inklusi setara dengan 50 mg

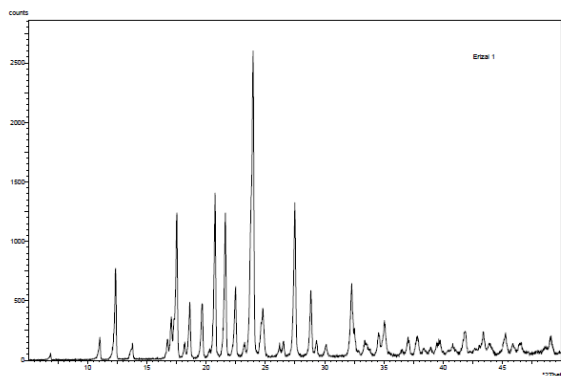
sulfametoksazol. Serbuk dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml larutkan dengan NaOH 0,1 M beberapa mL. kemudian cukupkan volume sampai tanda batas (konsentrasi 500  $\mu$ g/mL). Ambil 5 mL dari larutan tersebut, masukkan kedalam labu 50 mL dan cukupkan volume sampai tanda batas (konsentrasi 50  $\mu$ g/mL). Ambil 5 mL dari larutan tersebut, masukkan ke dalam labu 25 mL dan cukupkan volume sampai tanda batas (konsentrasi 10  $\mu$ g/mL). Ukur serapan larutan tersebut pada panjang gelombang maksimum. Kadar perolehan kembali sulfametoksazol dalam serbuk campuran fisik dan kompleks inklusi dihitung dengan menggunakan kurva kalibrasi.

### d. Uji Disolusi

Penetapan profil disolusi dari kompleks inklusi sulfametoksazol dan  $\beta$ - siklodekstrin dengan menggunakan alat disolusi tipe dayung. Wadah diisi dengan air dan suhu diatur pada  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Labu disolusi diisi dengan medium HCl 0,1 N sebanyak 900 ml. Kemudian kompleks inklusi setara dengan 200 mg dimasukkan kedalam wadah silinder, dayung diputar dengan kecepatan 75 rpm. Larutan disolusi dipipet 5 ml pada menit ke 5, 10, 15, 30, 45, dan 60. Pada setiap pemipetan diganti dengan medium disolusi (volume dan suhu yang sama saat pemipetan). Serapan larutan yang telah dipipet dari medium disolusi diukur pada panjang gelombang maksimum.

## HASIL DAN DISKUSI

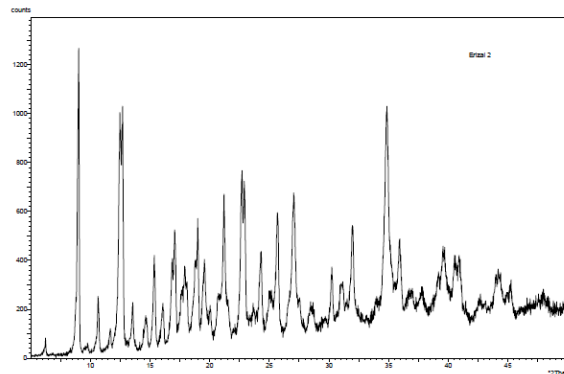
Pembentukan kompleks inklusi dilakukan dengan menggunakan metode co-grinding. *Co-grinding* adalah salah satu metode yang sedang berkembang pada industri farmasi. Energi mekanik yang dihasilkan pada proses penggilingan dalam keadaan padat dapat mengakibatkan terjadinya perubahan ukuran partikel, luas permukaan, perubahan derajat kristalinitas dan terbentuknya polimorf dari suatu senyawa obat sehingga dapat merubah sifat fisikokimia obat dan mempengaruhi laju disolusi dan ketersediaan hayati obat (Yang Lin, Hung Hsu, Ying Ke, 2010).



Gambar 1 Difraktogram sinar- X sulfametoksazol

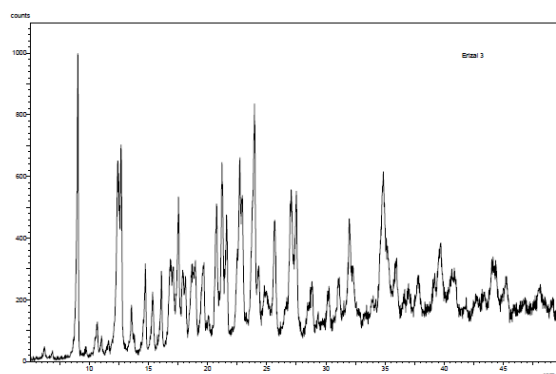
Proses pembentukan kompleks inklusi disebabkan oleh adanya interaksi hidrofobik, interaksi *van der waals*, ikatan hidrogen, ikatan dipol- dipol dan pelepasan entalpi air. Interaksi hidrofobik terjadi ketika molekul siklodekstrin yang bersifat hidrofobik berdekatan dengan sifat hidrofobik molekul obat. Ikatan *van der waals* terjadi ketika molekul siklodekstrin dan molekul obat saling berdekatan dan terjadi tarik menarik antara kedua molekul. Ikatan hidrogen terjadi saat atom hidrogen berikatan dengan atom elektronegatif (N, O, F). Berdasarkan hal ini, terjadinya kompleks inklusi antara sulfametoksazol dapat disebabkan oleh terjadinya ikatan hidrogen dimana atom hidrogen dari  $\beta$ - siklodekstrin berikatan dengan atom nitrogen yang terdapat dalam sulfametoksazol. Ikatan ini terjadi karena adanya energi mekanik yang

dihasilkan pada saat proses co- grinding. Selain itu, pembentukan kompleks inklusi juga dipengaruhi oleh bentuk dan ukuran senyawa obat. Senyawa obat yang memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan  $\beta$ -siklodekstrin meliputi senyawa alifatik rantai lurus dan bercabang, aldehid, keton, alkohol, asam organik, asam lemak, aromatik, gas dan senyawa polar seperti halogen dan amina.



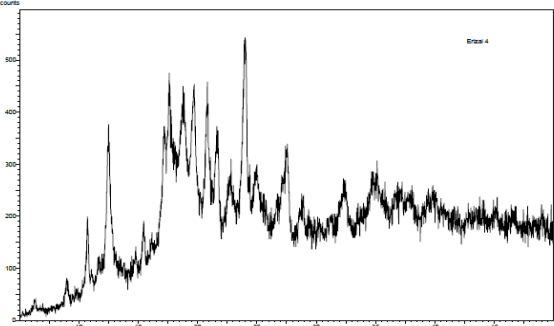
Gambar 2. Difraktogram sinar- X  $\beta$ -siklodekstrin

Senyawa obat yang digunakan pada penelitian ini adalah sulfametoksazol. Jika dilihat berdasarkan literatur, sulfametoksazol memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan  $\beta$ -siklodekstrin. Sulfametoksazol memiliki berat molekul 253,3 g/mol dimana senyawa ini memiliki kesesuaian dengan kapasitas dari  $\beta$ -siklodekstrin yang dapat mengkompleks senyawa obat yang memiliki berat molekul 200 – 800 g/mol (Zingone & Rubessa, 2004).

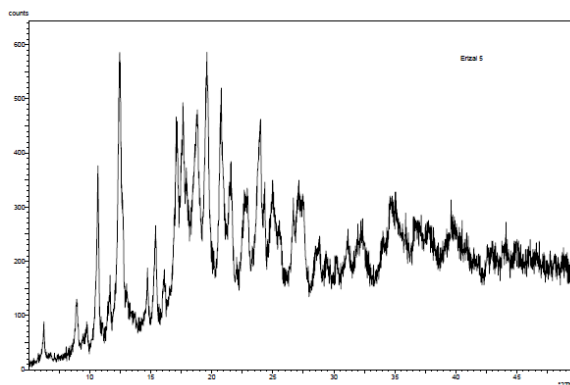


Gambar 3. Difraktogram sinar- X campuran fisik F1

Analisis difraksi sinar-X dilakukan pada sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin, campuran fisik dan kompleks inklusi sulfametoksazol -  $\beta$ -siklodekstrin. Hasil difraktogram sulfametoksazol murni menunjukkan karakteristik kristalin. Puncak-puncak kristalin sulfametoksazol terlihat pada sudut  $2\theta$  :  $12,5^\circ$  ,  $17,5^\circ$  ,  $21^\circ$  ,  $22,5^\circ$  ,  $24,5^\circ$  dan  $27^\circ$  . Difraktogram  $\beta$ -siklodekstrin juga masih menunjukkan karakteristik kristalin karena bahan baku  $\beta$ -siklodekstrin yang digunakan dalam bentuk kristal. Difraktogram substansi amorf ditunjukkan oleh pola yang menyebar, karena substansi amorf merupakan substansi dengan struktur yang tidak teratur dan tersusun tanpa arah. Keadaan ini berbeda dengan substansi kristal yang tersusun dari struktur yang teratur, sehingga jarak antara bidang-bidang paralel dapat diukur dan pada pola difraktogram terlihat sebagai puncak-puncak yang intensif.



Gambar 4. Difraktogram sinar-X kompleks inklusi F1

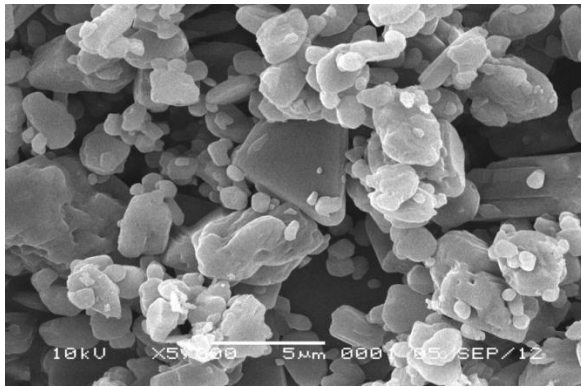


Gambar 5. Difraktogram sinar-X kompleks inklusi F2

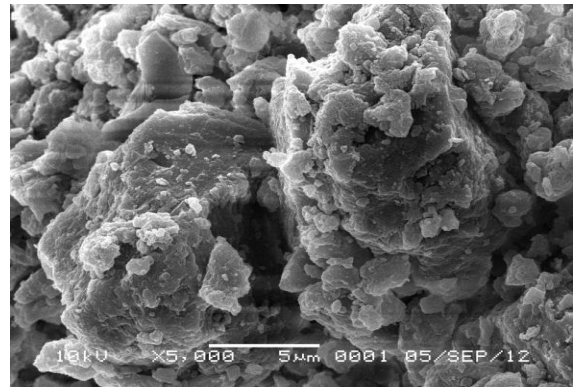
Hasil difraktogram campuran fisik sulfametoksazol-  $\beta$ -siklodekstrin pola kristalin  $\beta$ -siklodekstrin bercampur dengan pola kristalin sulfametoksazol. Puncak-puncak kristalin sulfametoksazol terlihat jelas pada sudut  $2\theta$  :  $12,5^\circ$  ,  $17,5^\circ$  dan  $24,5^\circ$ . Hal ini memperlihatkan bahwa sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin belum menyatu. Difraktogram hasil kompleks inklusi sulfametoksazol-  $\beta$ -siklodekstrin menunjukkan terjadinya penurunan intensitas yang sangat tajam dari puncak sulfametoksazol. Penurunan intensitas puncak menunjukkan perubahan derajat kristalinitas. Namun, puncak-puncak kristalin sulfametoksazol masih terlihat. Hasil difraktogram campuran fisik juga menunjukkan terjadinya tumpang tindih (superposisi) antara difraktogram sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin.

Analisis bentuk partikel dengan menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* (SEM) dengan berbagai perbesaran memperlihatkan karakteristik dari sulfametoksazol,  $\beta$ -siklodekstrin, campuran fisik, dan kompleks inklusi. Pada hasil SEM perbesaran 10000 kali, sulfametoksazol terlihat berupa padatan kristal dengan bentuk yang tidak beraturan (lampiran 2 gambar 2.2).  $\beta$ -siklodekstrin pada perbesaran 100 kali terlihat seperti batang (lampiran 2 gambar 2.3). Pada campuran fisik pada perbesaran 5000 kali bentuk sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin masih dapat dibedakan (lampiran 2 gambar 2.5). Pada kompleks inklusi F1 perbesaran 5000 kali memiliki bentuk yang tidak beraturan atau amorf, membentuk aglomerat dan ukurannya lebih besar dibandingkan campuran fisik. Namun amorfisasi yang terbentuk hanya sebagian (lampiran 2 gambar 2.1). Kompleks inklusi F2 pada perbesaran 5000 kali menunjukkan bentuk yang koheren dimana bentuk sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin sulit untuk dibedakan (lampiran 2 gambar 2.5)

Hasil karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR, sulfametoksazol memberikan puncak pada bilangan gelombang  $1156,79$ ;  $1143,30$ ;  $1091,46$ ;  $927,17$ ;  $828,65$  dan  $685,28 \text{ cm}^{-1}$ .



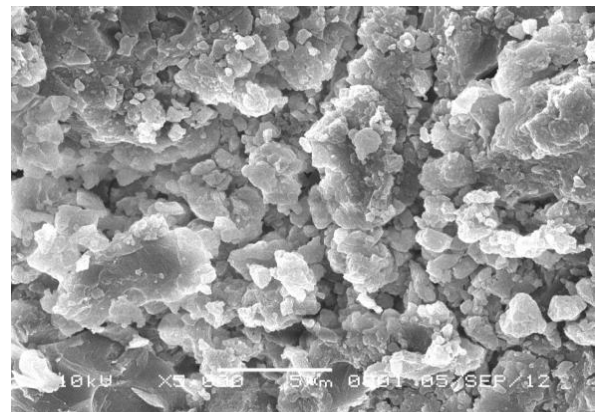
Gambar 6. Morfologi serbuk sulfametoksazol dengan perbesaran 5000x



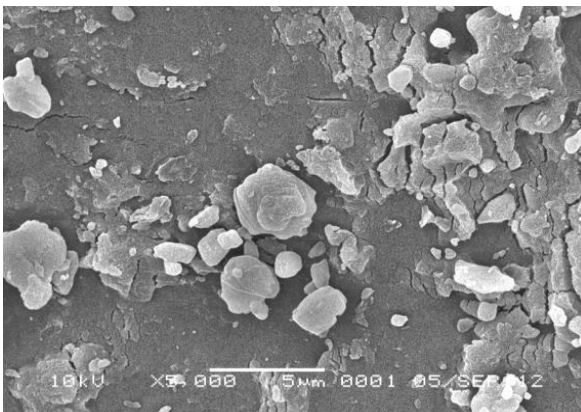
Gambar 9. Morfologi serbuk kompleks inklusi F1 dengan perbesaran 5000x



Gambar 7. Morfologi  $\beta$ -Siklodekstrin perbesaran 5000x



Gambar 10. Morfologi serbuk kompleks inklusi F2 dengan perbesaran 5000x



Gambar 8. Morfologi campuran fisik dengan perbesaran 5000x

Puncak pada panjang gelombang 1156,79 menunjukkan adanya ikatan S=O. Spektre FT-IR  $\beta$ -siklodekstrin menunjukkan puncak yang lebar pada bilangan gelombang 3500 - 3000  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya alkohol dan gugus OH pada molekul kompleks seperti selulosa, sakarida, polimer dan molekul lain yang mempunyai gugus yang mengabsorpsi sangat kuat. Puncak lain pada bilangan gelombang 1028,92  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya ikatan C-O (Silverstein, *et.al.*, 1981). Pada hasil karakterisasi campuran fisik terdapat puncak yang menunjukkan adanya kemiripan puncak dengan sulfametoksazol yaitu pada bilangan gelombang 1156,59; 1143,64; 828,75 dan 685,45  $\text{cm}^{-1}$ . Munculnya puncak – puncak yang menunjukkan kemiripan puncak yang dimiliki sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara sulfametoksazol dengan  $\beta$ -



siklodekstrin. Karakterisasi kompleks inklusi formula 1 (F1) menunjukkan adanya gugus fungsi sulfametoksazol dan  $\beta$ -siklodekstrin yaitu puncak pada bilangan gelombang 1026,88; 1078,59 dan 1155,92  $\text{cm}^{-1}$ . Sedangkan pada kompleks inklusi F2 menunjukkan adanya gugus fungsi sulfametoksazol yaitu adanya puncak pada bilangan gelombang 1026,88; 1078,59 dan 1155,92  $\text{cm}^{-1}$  dan adanya gugus fungsi dari  $\beta$ -siklodekstrin yaitu adanya puncak yang lebar pada bilangan gelombang 3000 - 3500  $\text{cm}^{-1}$ . Hilangnya sebagian puncak sulfametoksazol dan pergeseran puncak sulfametoksazol menunjukkan bahwa sulfametoksazol terkompleks ke dalam rongga  $\beta$ -siklodekstrin.

Penetapan perolehan kembali zat aktif sulfametoksazol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV dengan medium NaOH. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum sulfametoksazol menurut Farmakope Indonesia Edisi IV dalam NaOH 10  $\mu\text{g/mL}$  adalah 257 nm. Panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari penelitian adalah 256,8 nm. Hasil yang didapat tidak berbeda jauh dari literatur dan masih memenuhi syarat yaitu tidak kurang dan lebih dari 2%. Persamaan garis yang didapat adalah  $y = 0,06637x - 0,00767$  dengan nilai  $r = 0,99994$ . dari hasil penelitian didapatkan hasil perolehan kembali sulfametoksazol dalam campuran fisik F1 = 102,456%  $\pm$  0,83, kompleks inklusi F1 = 102,556  $\pm$  2,17 dan F2 = 104,465  $\pm$  0,43.

Uji disolusi sulfametoksazol murni, campuran fisik, dan kompleks inklusi dilakukan dengan medium HCl 0.1 N. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum sulfametoksazol dalam HCl menggunakan larutan dengan konsentrasi 14  $\mu\text{g/mL}$  dan panjang gelombang yang didapatkan pada penelitian adalah 265,6 nm. Panjang gelombang yang didapat tidak berbeda jauh dengan yang tercantum dalam literatur yaitu 265 nm.

Pada sulfametoksazol murni, persentase disolusi menit ke- 5 adalah 25,7011% sedangkan pada campuran fisik F1

adalah 58,4143%, dan pada kompleks inklusi F1 adalah 85,0037, F2 adalah 85,181%. Pada menit ke-60 adalah 92,6667%, sedangkan pada campuran fisik F1 adalah 99,7877%, dan pada kompleks inklusi F1 adalah 101,059, F2 adalah 102,7711%. Dari hasil yang diperoleh, persen terdisolusi yang paling bagus adalah kompleks inklusi F2. Literatur menyatakan bahwa semakin banyak jumlah polimer yang digunakan, maka persentase disolusi akan semakin meningkat (Barzegar- Jalali, et al.,2007). Dari hasil terlihat peningkatan persen disolusi dibandingkan dengan sulfametoksazol murni. Peningkatan persen disolusi dari campuran fisik dan kompleks inklusi disebabkan obat terkompleks dalam suatu matriks yang berbentuk rongga dimana bagian dalam rongga bersifat hidrofobik dan bagian luar bersifat hidrofilik ( $\beta$ -siklodekstrin). Dengan penambahan pengompleks  $\beta$ -siklodekstrin, zat yang memiliki masalah kelarutan dalam air akan terkompleks dalam rongga siklodekstrin sehingga meningkatkan kelarutan dan laju disolusinya lebih cepat dibandingkan laju disolusi obat tunggal. Berdasarkan hasil disolusi yang didapat, hasil disolusi yang diperoleh telah sesuai dengan literatur bahwa dengan penambahan polimer hidrofilik dan dengan teknik *co- grinding* dapat meningkatkan persen disolusi obat yang memiliki masalah kelarutan dalam air. Metode *co- grinding* menyebabkan pengurangan ukuran partikel dan akan mengubah fase kristal padatan menjadi padatan obat menjadi fase amorf sehingga mudah larut dalam air (Barzegar- Jalali et al.,2007). Hasil disolusi didukung dari karakterisasi yang telah dilakukan seperti SEM, difraksi sinar- X dan lain- lain. Reduksi kristalinitas juga berperan dalam peningkatan laju disolusi (Challa, et al., 2005) sebagaimana terlihat pada hasil karakterisasi dengan difraksi sinar- X.

Parameter lain yang digunakan untuk evaluasi disolusi adalah efisiensi disolusi (ED) (Abdou, 1989). Nilai efisiensi disolusi merupakan nilai AUC (*Area Under Curve*) dari jumlah obat yang terdisolusi per satuan waktu. Perhitungan rata- rata efisiensi

disolusi diperoleh dari luas daerah dibawah kurva (lampiran 9 tabel V) menunjukkan nilai efisiensi disolusi untuk sulfametoksazol adalah  $55,7426 \pm 3,83$ , campuran fisik F1 =  $82,9516 \pm 0,19$ , kompleks inklusi F1 =

$90,129 \pm 1,29$ , F2 =  $90,2449 \pm 0,88$ . Data ini memperlihatkan bahwa kompleks inklusi F2 mempunyai efisiensi disolusi yang terbesar dibandingkan dengan formula lainnya.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- a. Kompleks inklusi sulfametoksazol-  $\beta$ -siklodekstrin dapat dibentuk dengan metode co- grinding. Hal ini dapat terlihat jelas pada hasil karakterisasi dengan difraksi sinar- X, spektrofotometer IR dan uji disolusi.
- b. Hasil disolusi menunjukkan terbentuknya kompleks karena terjadi peningkatan persen terdisolusi pada kompleks inklusi dibandingkan sulfametoksazol murni
- c. Persen terdisolusi kompleks inklusi dalam waktu 60 menit sulfametoksazol-  $\beta$ - siklodekstrin > campuran fisik sulfametoksazol-  $\beta$ - siklodekstrin > sulfametoksazol.

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk dapat melakukan pembentukan kompleks inklusi dengan metode co- grinding dengan variasi waktu dan kecepatan putaran penggilingan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdou, H. M. (1989). *Dissolution, bioavailability and bioequivalence*. Pennsylvania: Mack Publishing Company.
- Bazegar-Jalali, M., Valizadeh, H., Adibkia, K., (2007), Enhancing Dissolution Rate of Carbamazepine via Cogrounding with crosspovidone and Hydroxypropylmethylcellulose, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 6(3), 159-165.
- Bekers, O., Uijtendaal, E.V., Beijnen, J.H., Bult, A., and Undenberg, W.J.M.1991. Cyclodextrin in Pharmaceutical Field, *Drug Dev. Ind. Pharm*, 17 (11), 1503 –1549.
- Challa, C., Ahuja, A., Ali, J., Khar, R.K., 2005. Cyclodextrins In Drug Delivery An Updated Review, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 26 January 2005, hal. 13
- Chono, S., Takeda, E., Seki, T., dan Marimoto, K., (2008), Enhancement of the Dissolution Rate and Gastrointestinal Absorption of Pranlukast as a Model Poorly Water Soluble Drug by Grinding with Gelatin, *International Journal of Pharmaceutics*, 347, 71-78.
- Council of Pharmaceutical Society of Great Britain. 2001. *British Pharmacopoeia* (vol 1). London: The Pharmaceutical Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta
- Frank SG. 1975. Inclusion compound. *J Pharm Sci*, 64(10), 1585- 1601.
- Friedrich, H., Nada, A., dan Bodmeir, R., (2005), Solid State and Dissolution Rate characterization of co-ground mixture of Nifedipine and hydrophilic Carriers, *Drug Development Industrial Pharmacy*, 31, 719-728.
- Garg, A, dan Singh, S.2009. Solid State Interaction of Raloxifene HCL with Diffeent Hydrophilic Carriers During Co-grinding and its Effect on Dissolution Rate, *Drug Development Industrial Pharmacy*, 35, 455-470.
- Gunawan, Sulistia Gan., Setiabudy, Rianto., Nafrialdi. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Gaya Baru



- Loftsson T, Brewster ME. 1996. Pharmaceutical applications of  $\beta$ -cyclodextrin I, drug solubilization and stabilization. *J Pharm Sci*, 85(10), 1017- 1024.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., and Weller, P. J., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, London : Pharmaceutical Press.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C., 1981. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 4<sup>th</sup> ed., New York: John Wiley & Sons, hal. 108-120, 166-170
- Sugimoto, M., Okayaki, T,dkk. 1998. Improvement of Dissolution Characteristics and Bioavailability of Poorly Water Drugs by Poorly Water Drugs by Novel Cogrounding Method Using Water Soluble Polymer, *International Journal of Pharmaceutics*, 160, 11-19.
- Sweetman, S.C. (Ed). (2009). *Martindale, The Complete Drug Reference* (36<sup>th</sup> Ed). London: The Pharmaceutical Press.
- Vogt M, Kunath K, Dressman JB. 2008. Cogrounding enhances the oral bioavailability of EMD 57033, a poorly water soluble drug in dogs. *Eur J Pharm Biopharm*, 68, 338–45.
- Yang Lin, Shan, Hung Hsu, Cheng, Ying Ke, We. 2010. Solid-State Transformation of Different Gabapentin Polymorphs upon Milling and Co- milling. *International Journal of Pharmaceutics*, 396, 83- 90
- Zingone, R dan Rubessa, F. 2005. Preformulation Study of The Inclusion Complex Warfarin-  $\beta$ -Cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, 291, 3-10

**PENGARUH FRAKSI AIR HERBA SELEDRI (*Apium graveolens* L.)  
TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL MENCIT PUTIH JANTAN  
HIPERKOLESTEROL**

**Helmi Arifin, Meydiza Fahrefi, Surya Dharma**  
*Fakultas Farmasi Universitas Andalas*

**ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh hasil fraksinasi herba seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap kadar kolesterol total mencit putih jantan hiperkolesterol secara enzimatis menggunakan alat Nesco® MultiCheck. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan 6 kelompok mencit (tiap kelompok terdiri dari 5 ekor) yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, pembanding (simvastatin) dan 3 kelompok perlakuan. Induksi hiperkolesterol dilakukan dengan pemberian MDLT (makanan diet lemak tinggi) ditambah kuning telur puyuh 1% BB selama 7 hari. Sampel diberikan secara oral dengan dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB selama 21 hari dan pengukuran kadar kolesterol total dilakukan pada hari ke-0, 7, 14 dan 21. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air herba seledri pada dosis 25, 50 dan 100 mg/kgBB dapat menurunkan kadar kolesterol total secara bermakna ( $p < 0.05$ ).

**Kata kunci:** *Apium graveolens* L., kolesterol total, hiperkolesterol

**PENDAHULUAN**

Sampai saat ini, masih banyak masyarakat Indonesia yang memanfaatkan tanaman sebagai obat untuk mengatasi penyakit dalam meningkatkan kesehatan, salah satunya adalah seledri (*Apium graveolens* L.) yang merupakan tanaman dari famili Apiaceae. Bagian tanaman yang dimanfaatkan untuk dijadikan obat adalah biji, batang, daun, akar maupun herba seledri. Untuk herba seledri dipercaya dapat menurunkan kadar kolesterol yang mengandung flavonoid, kumarin, furanokumarin, isokoumestrol, umbelliferon, asparagin, selenium serta minyak atsiri (1.5-3%) yang terdiri dari limonen (60-70%), phtalida, beta-selinen dan asam lemak tidak jenuh (Juheini, 2002).

Diantara zat-zat tersebut, flavonoid merupakan zat yang berpotensi menurunkan kadar kolesterol (Nurwahyuni, 2006) dengan mekanisme upregulasi mRNA reseptor LDL (Pal *et al.*, 2002; Morin *et al.*, 2008). Flavonoid yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan bila dikonsumsi secara rutin dapat melindungi tubuh dari penyakit

kardiovaskuler dan beberapa penyakit kronik lain (Knekt *et al.*, 2002; Chepulis dan Starkey, 2008). Selain itu, flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah (Engler *et al.*, 2004), dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap pengaruh radikal bebas (Stein *et al.*, 1999; Ling *et al.*, 2001), antiinflamasi, antioksidan yang baik dan bersifat hipolipidemik (Davalos, 2006; Castilla *et al.*, 2006; Kelley *et al.*, 2006).

Pada hiperlipidemia terjadi peningkatan parameter lipid seperti kadar kolesterol total, lipoprotein densitas sangat rendah (*very low density lipoprotein*, VLDL), lipoprotein densitas rendah (*low density lipoprotein*, LDL) dan trigliserida serta penurunan kadar lipoprotein densitas tinggi (*high density lipoprotein*, HDL) (Guyton & Hall, 1997; American Diabetes Association, 2007). Kondisi hiperlipidemia terutama hiperkolesterolemia menyebabkan terjadinya peningkatan kadar LDL yang akan mudah teroksidasi sehingga terbentuk gugus hidroksil pada sel endotelium dan otot polos pembuluh darah. LDL (*low density*

*lipoprotein*) merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar pada manusia (70% total) yang berfungsi membawa kolesterol ke jaringan perifer untuk sintesis membran plasma dan hormon steroid.

Pada penelitian sebelumnya juga telah dilakukan pengujian terhadap tanaman ini namun yang dilihat pengaruh kadar kolesterol terhadap lanjut usia dengan menggunakan ekstrak etanol daun seledri (Aminah, 2011), dimana semakin bertambahnya usia kadar kolesterol total dan LDL akan meningkat yang diakibatkan berkurangnya kemampuan aktivitas reseptor LDL atau defisiensi reseptor (Vinagre *et al.*, 2007; Mufidatin *et al.*, 2009). Selain itu dilihat juga pengaruh sari herba seledri untuk menurunkan kolesterol dan lipid tikus putih yang diberi diet lemak (Juheini, 2002) dan efek fraksi kloroform dan fraksi etanol daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap kadar lipid plasma tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar (Soemardi *et al.*, 2005).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya maka penelitian ini akan mengkaji pengaruh fraksi air herba seledri terhadap kadar kolesterol total pada mencit hiperkolesterol. Fraksi air herba seledri yang digunakan ini terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan dengan memberikan fraksi heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air herba seledri dengan dosis masing-masing 25 mg/kgBB pada mencit hiperkolesterol. Dari uji pendahuluan diperoleh bahwa fraksi air memiliki aktivitas paling tinggi dalam menurunkan kadar kolesterol total. Keadaan hiperkolesterol diperoleh dengan metode induksi makanan tinggi kolesterol berupa kuning telur puyuh 1% BB ditambah makanan diet lemak tinggi (MDLT). Pengukuran kadar kolesterol total dengan metode enzimatis menggunakan alat ukur digital *Nesco® MultiCheck*. Hasil pengukuran kadar kolesterol total yang diperoleh diolah dengan uji analisa varian (anova) dua arah dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) (Scheffler, 1987).

## METODE PENELITIAN

### Alat

*Beaker glass*, gelas ukur, lumpang, stamper, sudip, corong pisah, wadah maserasi, *rotary evaporator*, timbangan analitik, oven, timbangan hewan, kandang mencit, pipet tetes, jarum oral, spatel, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kaca arloji, sonde, label, gunting bedah, alat digital dan striptest kolesterol *Nesco® MultiCheck*.

### Bahan

Mencit putih jantan, herba seledri (*Apium graveolens* L.) segar, etanol 70%, MDLT (makanan diet lemak tinggi), simvastatin, telur puyuh, aquades, heksan dan etil asetat.

### Hewan Percobaan

Mencit putih jantan galur D.Y Japan yang berumur lebih kurang 2 bulan dengan berat badan lebih kurang 20-30 gram dan belum pernah mengalami perlakuan terhadap obat sebanyak 39 ekor mencit.

### Cara kerja

#### Pengambilan Sampel

Sampel berupa herba seledri (*Apium graveolens* L.) segar yang didapat di daerah Bukittinggi, Sumatera Barat.

#### Pembuatan ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolens* L.)

Herba seledri segar 6 kg disortasi, lakukan pencucian sampai bersih dari tanah dan kotoran kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan gerinder. Setelah itu diekstraksi dengan metode maserasi dimana sampel dimasukkan ke dalam wadah yang tertutup baik dan terlindung cahaya lalu ditambahkan etanol 70% sampai terendam sempurna selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam (Suplemen Farmakope Herbal, 2011). Proses maserasi dilakukan

selama 5 hari dan 3 kali pengulangan. Maserat disaring dan diuapkan secara in vacuo dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

#### **Pembuatan fraksi herba seledri (*Apium graveolens* L.)**

Ekstrak etanol 70% herba seledri difraksinasi dengan heksan dalam corong pisah, dikocok secukupnya. Setelah itu dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan heksan dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi heksan. Lapisan air kemudian difraksinasi dengan etil asetat dilakukan beberapa kali pengulangan seperti perlakuan diatas sehingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Semua fraksi heksan, etil asetat dan air diuapkan secara in vacuo dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan fraksi kental.

#### **Karakterisasi fraksi poten herba seledri (*Apium graveolens* L.)**

pemeriksaan organoleptis, penentuan rendemen, susut pengeringan, dan penetapan kadar abu

#### **Penyiapan hewan percobaan**

Mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 39 ekor. Hewan percobaan dibagi dalam 6 kelompok yang terdiri dari 3 kelompok uji, 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif dan 1 kelompok pembanding. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan.

#### **Penginduksian hewan percobaan**

Penginduksian mencit hiperkolesterol, setiap mencit diinduksi dengan kuning telur puyuh sebanyak 1% berat badan dan ditambah dengan makanan diet lemak tinggi (MDLT) selama 7 hari.

#### **Perencanaan dosis dan pengelompokan hewan**

##### **Dosis fraksi aktif herba seledri**

Dosis yang digunakan untuk uji pendahuluan adalah 25 mg/kg BB pada fraksi air, fraksi heksan dan fraksi etil asetat. Untuk fraksi yang lebih berefek dilakukan percobaan dengan 3 dosis lanjutan dari fraksi tersebut.

#### **Pembanding**

Pembanding yang digunakan adalah simvastatin. Dosis oral efektif pada manusia 5-40 mg per hari untuk 1x pemakaian (Katzung, 1995). Tablet simvastatin yang beredar adalah 10 dan 20 mg, yang digunakan dosis 20 mg. Bila dikonversikan untuk pemakaian pada mencit, dosis untuk mencit yaitu 0.052 mg/20 g BB (faktor konversi 0.0026).

#### **Tahap-tahap pengujian**

##### **Uji pendahuluan**

Uji pendahuluan dilakukan untuk memperoleh fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam menurunkan kolesterol. Hewan uji dikelompokkan menjadi 3 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit dan diperlakukan seperti terlihat dalam tabel berikut:

Tabel 1. Kelompok perlakuan uji pendahuluan

No	Kelompok perlakuan	Dosis
1	Hiperkolesterol+fraksi heksan herba seledri	25 mg/kgBB
2	Hiperkolesterol+fraksi etil asetat herba seledri	25 mg/kgBB
3	Hiperkolesterol+fraksi air herba seledri	25 mg/kgBB

Perlakuan dilakukan selama 7 hari penginduksian hiperkolesterol dan pemberian fraksi diberikan selama 7 hari, kemudian ditentukan salah satu fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam menurunkan kolesterol yang selanjutnya akan digunakan sebagai sediaan uji pada uji lanjutan.

##### **Uji lanjutan**

Uji lanjutan dilakukan terhadap fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam

menurunkan kolesterol yaitu fraksi air herba seledri. Uji lanjutan dibuat dengan dosis (1, 2 dan 4 kali dari dosis fraksi yang aktif pada uji pendahuluan) yaitu dosis 25, 50 dan 100 mg/kg BB.

Tabel 2. Kelompok perlakuan uji lanjutan

Kelompok	Perlakuan
I	Kontrol negatif
II	Kontrol positif (induksi hiperkolesterol)
III	Induksi hiperkolesterol + fraksi air dosis 25 mg/kg BB
IV	Induksi hiperkolesterol + fraksi air dosis 50 mg/kg BB
V	Induksi hiperkolesterol + fraksi air dosis 100 mg/kg BB
VI	Induksi hiperkolesterol + pembanding (simvastatin)

Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, dimana perlakuan dilakukan selama 21 hari. Cek kolesterol dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, dan 21.

#### Pengukuran kadar kolesterol

Pengukuran dilakukan dengan alat digital Nesco®MultiCheck. Alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan nomor kode yang

disesuaikan dengan test strip yang akan digunakan. Test strip di selipkan pada tempat khusus pada alat tersebut, kemudian pada layar akan muncul gambar “tetesan darah” yang menandakan alat siap digunakan. Setelah ekor mencit didesinfeksi dengan etanol 70%, ujung ekor digunting, tetesan darah pertama dibuang, tetesan berikutnya ditetaskan pada test strip yang terselip pada alat. Sejumlah tertentu darah akan terserap sesuai dengan kapasitas serap test strip sampai terdengar bunyi bip, setelah itu pendarahan diekor mencit dihentikan. Hasil akan terlihat pada layar dalam waktu 150 detik untuk kolesterol dalam satuan mg/dL. Uji dilakukan pada setiap mencit dari semua kelompok.

#### Analisis Data

Data kadar kolesterol yang diperoleh dari percobaan diolah secara statistik dengan menggunakan uji analisis varian (ANOVA) dua arah dengan faktor independent (waktu dan dosis) dan faktor dependent (kadar kolesterol) kemudian dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*).

## HASIL DAN DISKUSI

#### Identifikasi herba seledri

Identifikasi sampel tanaman yang dilakukan di Herbarium ANDA, Universitas Andalas menyatakan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah seledri (*Apium graveolens* L.) dari famili Apiaceae.

#### Karakterisasi fraksi

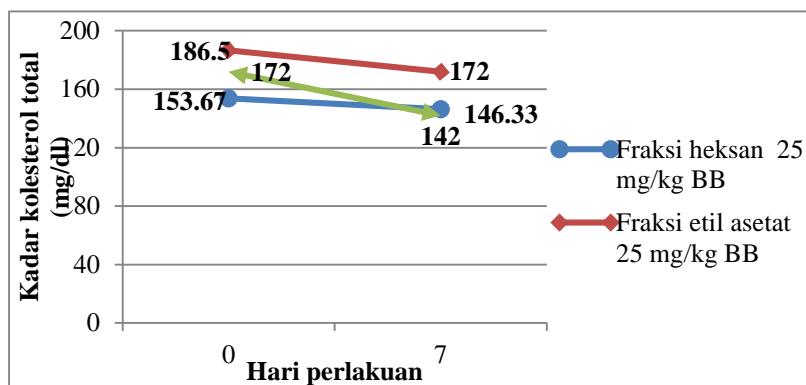
Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi air herba seledri diperoleh bahwa fraksi ini mempunyai bentuk cairan agak kental, bau khas, rasa pahit dan berwarna hijau pekat. Hasil fraksinasi ekstrak etanol herba seledri didapatkan untuk fraksi heksan 2.15 gram, fraksi etil asetat 22.01 gram dan fraksi air 94.87 gram. Rendemen untuk fraksi heksan 0.43%, fraksi etil asetat 4.402% dan fraksi air 18.974%. Susut pengeringan fraksi air

diperoleh kadar 17.08%, 18.42% dan 18.62% dengan rata-rata susut pengeringan sebesar 18.04%. Pemeriksaan kadar abu diperoleh 5.69%, 5.55% dan 5.66% dengan rata-rata kadar abu sebesar 5.63%. Susut pengeringan fraksi ini cukup baik. Pemeriksaan susut pengeringan dimaksudkan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya fraksi. Pada penentuan kadar abu, fraksi air dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi menguap sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik.

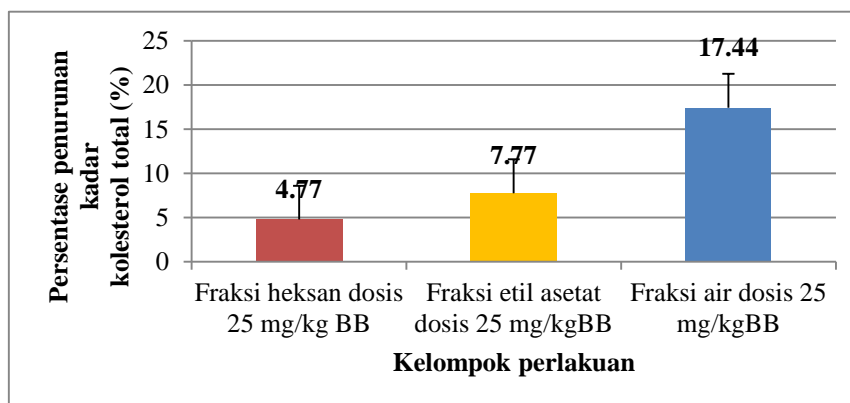
## Pengaruh pemberian fraksi aktif herba seledri terhadap kadar kolesterol total pada uji pendahuluan

Tabel 3. Rata-rata kadar kolesterol total pada uji pendahuluan dan persentase penurunan

Kelompok perlakuan	Kadar kolesterol rata-rata (mg/dl) $\pm$ SD dan (%) penurunan pada waktu perlakuan			
	Hari ke-0		Hari ke-7	
	Kadar	%	Kadar	%
Hiperkolesterol + fraksi heksan 25 mg/kgBB	153.67 $\pm$ 17.21	0.00	146.33 $\pm$ 10.78	↓ 4.77
Hiperkolesterol + fraksi etil asetat 25 mg/kgBB	186.5 $\pm$ 2.12	0.00	172 $\pm$ 1.41	↓ 7.77
Hiperkolesterol + fraksi air 25 mg/kgBB	172 $\pm$ 1.73	0.00	142 $\pm$ 4.35	↓ 17.44



Gambar 1. Grafik rata-rata kadar kolesterol total pada uji pendahuluan



Gambar 2. Grafik persentase penurunan kadar kolesterol total pada uji pendahuluan

Data yang dihasilkan pada uji pendahuluan menunjukkan bahwa adanya pengaruh dari masing-masing fraksi terhadap kadar kolesterol total menciit. Ketiga fraksi tersebut dapat menurunkan kadar kolesterol total dengan persentase yang berbeda-beda yaitu untuk fraksi heksan 4.77%, fraksi etil asetat 7.77% dan fraksi air 17.44%. Berdasarkan

hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi air dengan dosis 25 mg/kgBB merupakan fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam menurunkan kadar kolesterol total. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi air dengan dosis 25 mg/kgBB merupakan fraksi yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam menurunkan kadar

kolesterol total. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, senyawa yang diharapkan sebagai penurun kolesterol dari herba seledri yaitu senyawa flavonoid, flavonoid yang terkandung di dalam herba seledri yaitu apiin

dan apigenin yang bersifat polar, maka pada uji pendahuluan ini didapatkanlah penurunan yang tinggi terjadi pada pemberian fraksi air dimana senyawa polar akan terekstraksi pada pelarut polar.

### Pengaruh pemberian fraksi air herba seledri terhadap kadar kolesterol total pada uji lanjutan

Tabel 4. Rata-rata kadar kolesterol total pada uji lanjutan dan persentase penurunan

Perlakuan	Kadar kolesterol rata-rata (mg/dl) $\pm$ SD dan persentase (%) penurunan pada waktu perlakuan							
	Hari ke-0		Hari ke-7		Hari ke-14		Hari ke-21	
	kadar	%	kadar	%	kadar	%	Kadar	%
Kontrol negatif	132 $\pm$ 4.96	0.00	158.8 $\pm$ 10.66	$\uparrow$ 20.3	158.4 $\pm$ 8.47	$\uparrow$ 20	161.6 $\pm$ 9.18	$\uparrow$ 22
Kontrol positif	150.2 $\pm$ 26.75	0.00	171.2 $\pm$ 21.12	$\uparrow$ 13.98	155.6 $\pm$ 16.34	$\uparrow$ 3.59	160.8 $\pm$ 28.92	$\uparrow$ 7.05
Hiper kolesterol+ fraksi air 25 mg/kgBB	156.6 $\pm$ 21.96	0.00	138.6 $\pm$ 4.21	$\downarrow$ 11.49	140 $\pm$ 13.2	$\downarrow$ 10.6	149.2 $\pm$ 17.51	$\downarrow$ 4.72
Hiper kolesterol+ fraksi air 50 mg/kgBB	145.4 $\pm$ 10.06	0.00	141.2 $\pm$ 19.76	$\downarrow$ 2.88	141.2 $\pm$ 16.79	$\downarrow$ 2.88	142.8 $\pm$ 18.32	$\downarrow$ 1.78
Hiper kolesterol+ fraksi air 100 mg/kgBB	140.4 $\pm$ 12.95	0.00	123.8 $\pm$ 19.12	$\downarrow$ 11.82	128.8 $\pm$ 12.39	$\downarrow$ 8.26	130.8 $\pm$ 12.23	$\downarrow$ 6.83
Hiper kolesterol+ simvastatin (pembanding)	162.8 $\pm$ 12.63	0.00	129 $\pm$ 18.12	$\downarrow$ 20.76	133 $\pm$ 10.61	$\downarrow$ 18.3	137 $\pm$ 10.13	$\downarrow$ 15.84

Uji lanjutan dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian fraksi air herba seledri terhadap kolesterol total dengan 6 kelompok perlakuan yaitu, kelompok kontrol negatif, kontrol positif, pembanding (simvastatin), perlakuan dengan dosis 25 mg/kgBB, dosis 50 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB. Sama dengan uji pendahuluan, semua mencit di kelompok perlakuan kecuali kelompok kontrol negatif diinduksi hiperkolesterol selama 7 hari, kemudian dilakukan pemberian sediaan uji sesuai dosis yang telah direncanakan selama 21 hari.

Selama pemberian sediaan uji, induksi hiperkolesterol tetap dilakukan sehingga dapat diperoleh data penurunan

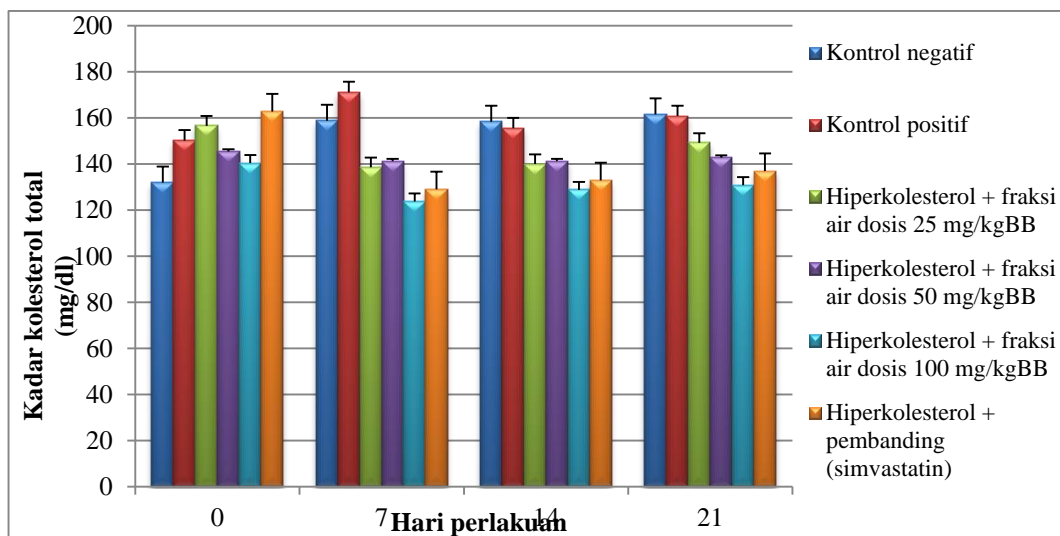
kadar kolesterol yang disebabkan oleh pemberian sediaan uji (fraksi air dan simvastatin) bukan dari diberhentikannya induksi hiperkolesterol pada mencit.

Data yang dihasilkan pada uji lanjutan diperoleh kadar kolesterol total mencit yang cukup beragam pada setiap kelompok dengan standar deviasi yang beragam pula. Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan kondisi fisik dan fisiologis tiap individu mencit selama penelitian. Dan juga dapat disebabkan oleh asam lemak tak jenuh yang terkandung pada seledri diduga mempunyai efek yang berlawanan. Asam lemak tak jenuh mempunyai ikatan ganda, sifatnya lebih

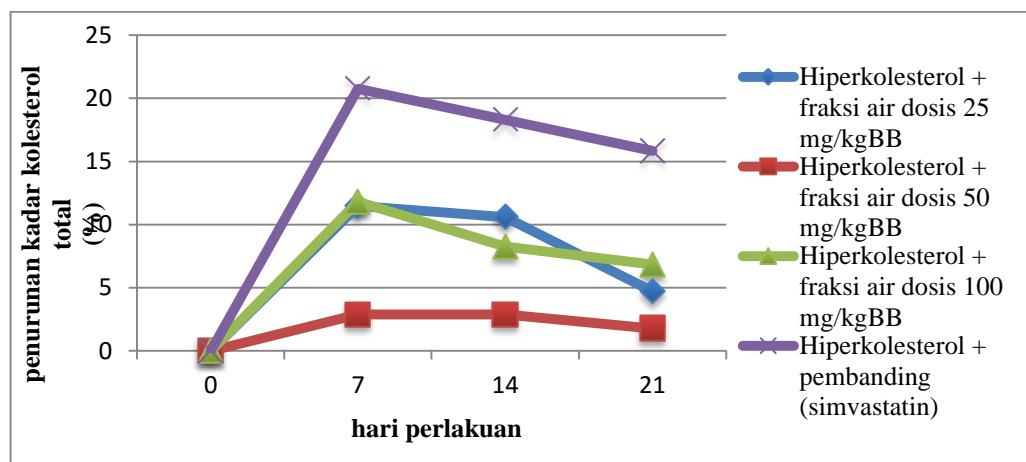


reaktif atau mudah bereaksi dengan oksigen atau mudah teroksidasi, terutama saat pemanasan justru asam lemak tak jenuh

mudah membentuk radikal bebas, lemak trans yang dapat meningkatkan kadar lipid (Sianturi, 2002).



Gambar 3. Grafik rata-rata kadar kolesterol total pada uji lanjutan



Gambar 4. Grafik penurunan kadar kolesterol total pada uji lanjutan

Berdasarkan pengamatan kadar kolesterol total rata-rata, terjadi penurunan kadar kolesterol setelah pemberian fraksi air herba seledri dengan tiga variasi dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan pemberian simvastatin sebagai pembanding bila dibandingkan terhadap kontrol positif. Kelompok perlakuan pemberian simvastatin memberikan penurunan cukup tinggi bila dibandingkan dengan ketiga dosis yang diujikan. Namun dilihat dari kelompok kontrol negatif terjadi peningkatan yang lebih besar daripada kontrol positif. Ini mungkin disebabkan kurangnya jumlah penginduksi

yang diberikan. Pada hari ke-7 perlakuan, terjadi penurunan yang optimal pada kelompok tiga variasi dosis dan pembanding yaitu untuk dosis 25 mg/kgBB memberikan persentase penurunan sebesar 11.49%, dosis 50 mg/kgBB sebesar 2.88%, dosis 100 mg/kgBB sebesar 11.82% dan pada kelompok pembanding persentase penurunannya sebesar 20.76%, tetapi pada hari ke-14 dan 21, persentase penurunan kadar kolesterol terhadap hari ke-0 menghasilkan nilai yang lebih kecil dari persentase hari ke-7 bahkan terjadi kenaikan kadar kolesterol pada kelompok perlakuan



tersebut. Hal ini kemungkinan disebabkan terjadinya kejenuhan sistem enzim yang berikatan dengan obat dan akumulasi dari makanan lemak tinggi yang diberikan. Kondisi tersebut merupakan fenomena yang cukup sering ditemui dalam pengujian suatu calon obat baru, dimana terjadi optimasi dosis, artinya suatu respon farmakologi memiliki suatu efek maksimum pada dosis tertentu (Katzung, 1995). Dari perhitungan persentase penurunan kadar kolesterol total, simvastatin memberikan penurunan yang cukup tinggi dibandingkan dengan ketiga dosis yang diujikan. Hasil pengujian statistika dengan analisa varian (ANOVA) 2 arah menunjukkan bahwa tidak terjadi pengaruh secara signifikan waktu dan interaksi antara dosis fraksi air herba seledri dengan waktu perlakuan terhadap kadar kolesterol total ( $p > 0.05$ ), sedangkan dosis fraksi air herba seledri mempunyai pengaruh secara signifikan terhadap kadar kolesterol total ( $p < 0.05$ ). Pada uji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) diperoleh bahwa kelompok hiperkolesterol yang diberi fraksi air herba seledri dosis 25,

50 dan 100 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol positif. Pada pemberian dosis 25 mg/kgBB dan dosis 50 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, tetapi keduanya menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan fraksi air herba seledri dosis 100 mg/kgBB. Oleh karena itu, dosis fraksi air herba seledri 100 mg/kgBB memberikan efek penurunan kadar kolesterol total cukup optimal dibandingkan dengan kedua dosis lainnya.

Sedangkan bila dilihat dari hasil uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) kadar kolesterol total terhadap faktor lama pemberian, tidak terdapat perbedaan yang nyata antara hari ke- 0,7, 14 dan 21. Hal ini mungkin disebabkan selama perlakuan, penginduksian hiperkolesterol tetap dilaksanakan sedangkan sediaan uji yang diberikan menggunakan dosis yang sama dari awal sampai akhir perlakuan. Sehingga kemampuan sediaan uji dalam menurunkan kadar kolesterol menjadi berkurang akibat asupan lemak yang terus menerus.

Tabel 5. Hasil perhitungan statistik kadar kolesterol total mencit dengan ANOVA dua arah menggunakan SPSS 17.0

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rataan Tengah	F	Sig.
Dosis	8678.700	3	2892.900	8.962	.000
Waktu	614.100	3	204.700	.634	.596
dosis * waktu	2536.400	9	281.822	.873	.554
Galat	20660.000	64	322.812		
Total	32489.200	79			

Tabel 6. Hasil perhitungan kadar kolesterol total terhadap faktor dosis dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan SPSS 17.0

Dosis	N	Subset		
		1	2	3
dosis 100 mg/kgBB	20	130.20		
dosis 50 mg/kgBB	20		142.65	
dosis 25 mg/kgBB	20		146.10	
kontrol positif	20			159.45
Sig.		1.000	.546	1.000

Pada penelitian ini diketahui bahwa menurunkan kadar kolesterol total mencit pemberian fraksi air herba seledri dapat putih jantan walaupun persentase

penurunannya tidak sebesar penurunan pada kelompok pembanding yaitu pemberian simvastatin. Mekanisme hiperkolesterol tidak sepenuhnya diketahui, akan tetapi penurunan sintesis kolesterol memegang peranan penting dalam menurunkan kadar kolesterol darah. Dari penelitian sebelumnya diduga flavonoid menurunkan kolesterol dengan mekanisme upregulasi mRNA reseptor LDL (Pal *et al.*, 2002, Morin *et al.*, 2008). Efek penurunan kolesterol mungkin berhubungan dengan penurunan absorpsi kolesterol dan

peningkatan sintesis asam empedu (Brown, 1999; Jones, 1999; Mourisi, 2006; Talati, 2009). Literatur lain juga menyebutkan bahwa penurunan kadar kolesterol oleh ekstrak tumbuhan dapat terjadi dengan mekanisme seperti menghambat enzim HMG-KoA reduktase, menstimulasi kolesterol-7- $\alpha$ -hidrosiklase (CYP7A1) yang mengkonversi kolesterol menjadi asam empedu dan atau menghambat absorpsi kolesterol dari saluran cerna (Gaamoussi, 2010).

### KESIMPULAN

Dari 500 g sampel kering herba seledri didapatkan fraksi air sebanyak 94,87 g dengan rendemen 18974%, susut pengeringan sebesar 18,04% dan kadar abu sebesar 5,63%.

Fraksi air herba seledri dapat menurunkan kadar kolesterol total pada keadaan hiperkolesterol. Efek penurunan kadar kolesterol total terbaik ditunjukkan oleh fraksi air herba seledri dengan dosis 100 mg/kgBB.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed QS, Sayedda K. 2012. Effect of Celery (*Apium Graveolens*) Seeds Extract On Protease Inhibitor (Ritonavir) Induced Dyslipidemia. *NJIRM Vol.3 (1)*. January-March.
- Alsa'aidi JAA, Alrodhan MNA, Ismael AK. 2012. Antioxidant Activity of n-Butanol Extract of Celery (*Apium graveolens*) Seed In Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Research in Pharmaceutical Biotechnology Vol. 4(2)*.
- American Diabetes Association. 2007. *Standarts of Medical Care in Diabetes*. Diabetes Care 30. P.4-41.
- Aminah, Luluk, Yoyon Arif M., Rahma Triliana. 2011. *Efek Ekstrak Etanol Daun Seledri (Apium graveolens L.) Terhadap Kadar Kolesterol dan non HDL-Kolesterol Tikus Tua*. Jurusan Pendidikan Dokter Universitas Islam Malang.
- Ariati R. 2012. *Pengaruh Fraksi Air Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa, L) Terhadap kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Jantan Hiperkolesterol dan Hiperkolesterol-Disfungsi Hati*. Tesis S2 Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.
- Castilla P, Echarri R, Davalos A, Cerrato F. 2006. Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *Am J Clin Nutr*, 84(1): 252-262.
- Colpo A. 2005. LDL Cholesterol: Bad Cholesterol or Bad Science. *Journal of American Physicians and Surgeons Volume 10 Number 3*.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid II*. Jakarta: PT. Trubus Agriwidya.
- Daniel M. 2006. *Medicinal Plant Chemistry and Properties*. Jersey USA: Science Publisher.
- Davalos A, Fernandez HC, Cerrato F, Martinez BJ. 2006. Red Grape Juice Polyphenols Alter Cholesterol Homeostasis and Increase LDL-Receptor Activity in Human Cells in Vitro. *J Nutr*, 136: 1766-1773.

- Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2008. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi 3*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid 5*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid 6*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dharma S, Fitrianda E, Meiliana M. 2012. Pengaruh Air Seduhan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Kadar Nitrogen Oksida Serum Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia. *Scientia Vol.2, No.2*.
- Duke JA. 2002. *Handbook of Medicinal Herbs, second edition*. Florida: CRC Press.
- Engler MB, Engler MM, Chen CY. 2004. Flavonoid-Rich Dark Chocolate Improves Endothelial Function and Increases Plasma Epicatechin Concentrations in Healthy Adults. *Journal of The American College of Nutrition*, 23 (3): 197-204.
- Fazal SS, Singla RK. 2012. Review On Pharmacognostical and Pharmacological Characterization of *Apium Graveolens* Linn. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences 2* (1):36-42.
- Gaamoussi F, Israili ZH, Lyoussi B. 2010. Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of N Aqueous Extract of *Chamaerops Humilis* Leaves in Obese, Hyperglycemic and Hyperlipidemic Meriones Shawi Rats. *Park. J. Pharm. Sci., Vol.23, No.2. P. 212-219*.
- Ganiswarna SG. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI.
- Ganong WF. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 20*. Jakarta: EGC.
- Ginsberg HN, Zhang YL, Hernancez O. 2005. Regulation of Plasma Triglycerides in Insulin Resistance and Diabetes. *Arch Med Res*, 36.P.232-240.
- Goodman LS, Gilman A. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi Edisi 10*. Jakarta: EGC.
- Guyton AC, Hall JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Jakarta: EGC.
- Harbone JB. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harmanto N. 2005. *Sentuhan Mahkota Dewa dkk Atasi Kolesterol*. Jakarta: Agromedia
- Jawi IM, Budiasa K. 2011. Ekstrak Air Umbi Ubijalar Ungu Menurunkan Total Kolesterol serta Meningkatkan Total Antioksidan Darah Kelinci. *Jurnal Veteriner Juni 2011, Vol.12 No.2:120-125*.
- Joo W, Ryu JH. 2010. The Influence of Sam-Chil-Geun (*Panax notoginseng*) on the Serum Lipid Levels and Inflammation of Rats with Hyperlipidemia Induced by Ploxaer-407. *Yonsei Med J.51(4). P.540-510*.
- Juheini. 2002. Pemanfaatan Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) Untuk Menurunkan Kolesterol dan Lipid Dalam Darah Tikus Putih Yang Diberi Diet Tinggi Kolesterol dan Lemak. *Maskara Sains Vol.6 No.2*.

- Jung WS, Chung IM, Kim SH, Kim MY, Ahmad A, Praveen N. 2011. In Vitro Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoids From Celery (*Apium graveolens*) Leaves. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 5(32).
- Katzung BG. 1995. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Kelley DS, Rasooly R, Jacob RA, Kader AA, Mackey BE. 2006. Consumption of BingSweet Cherries Lowers Circulating Concentrations of inflammation Markers in Healthy Men and women. *J Nutr*, 136: 981-986.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Kemenkes Republik Indonesia.
- Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R, Rissanen H, Heliovaara M, Reunanen A, Hakulinen T, Aromaa A. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr*, 76(53): 560-568.
- Koolman J, Rohm KH. 2000. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Jakarta: Indonesia.
- Kreisberg RA, Albert O. 2003. Medical Management of Hyperlipidemia/Dyslipidemia. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88(6): 2445-2461.
- Kreisberg RA, Oberman A. 2003. Medical Management of Hyperlipidemia/Dyslipidemia. *The Journal of Clinical & Metabolis* 88(6): 2445-2461.
- Mansi K. 2009. Hypolipidemic Effect of Seed Extract of Celery (*Apium graveolens* L.) in Rats. *Research Vol. 5, Issue 20, Page 301 - 305*.
- Mufidatin. 2009. *Pengaruh Pemberian Melatonin Terhadap Kadar Kolesterol Total, LDL dan HDL Darah Wistar Yang Diberi Diet Kuning Telur*. Bandung: UNIP.
- Murray RK. 2003. *Biokimia Harper, Edisi 25*. Jakarta: EGC.
- Nurwahyuni A. 2006. *Efek Kolesterol Daun Sambung Nyawa Terhadap Kadar Kolesterol LDL dan Kolesterol HDL Darah Tikus Diabetik Akibat Induksi Streptozotolin*. Skripsi Universitas Negeri Semarang.
- Pamidiboina V, Razdan R, Hariprasad MG. 2010. Evaluation of The Antihyperlipidemic, Cardioprotective Activity of A Polyherbal Formulation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol.2, Suppl 1.
- Rusdi NK. 2004. *Penggunaan Pemberian Ekstrak Daun Capo (Blumea balsamifera, (L.) D ) Terhadap Kadar Kolesterol HDL Mencit Putih Jantan*.
- Saghir MR, Sadiq S, Nayak S, Tahir MU. 2012. Hypolipidemic Effects of Aqueous Extract of *Carum carvi* (Black Zeera) Seeds In Diet Induced Hyperlipidemic Rats. *Pak. J. Pharm. Sci.* Vol. 25, No. 2.
- Sari LORK. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No.1, April, 01-07.
- Scheffler CW. 1987. *Statistik untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran dan Ilmu yang Bertautan Edisi 2*. Bandung: ITB Bandung.
- Shyamala MP, Venukumar, Latha. 2003. Antioxidant Potential of The *Syzygium aromaticum* (Gaert.) Linn. (Cloves) In Rats Fed With High Fat Diet. *Indian Journal of Pharmacology* 35: 99-103.
- Siemonsma JS, Piluek K. 1994. *Plant Resources of South-East Asia*. Bogor: Indonesia.
- Siska, Armenia, Arifin H. *The Effect of Multiple Fractions of Celery Root (Apium graveolens L.) on Blood Pressure of Hypertension Rats*. Universitas Andalas.
- Soemardi E, Ika YA, Bintarti Y. 2005. Efek Fraksi Kloroform dan Fraksi Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Kadar Lipid Plasma Tikus

- Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol.2, No.1.
- Steenis V. 1994. *Flora Malesiana Seri I, Volume 4*. Bogor: Indonesia.
- Stein JH, Keevil JG, Wiebe DA, Aeschlimann S, Folts JD. 1999. Purple Grape Juice Improves Endothelial Function and Reduces the Susceptibility of LDLCholesterol to Oxidation in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation* 100: 1050-1055.
- Sudoyo AW. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III, Edisi 5*. Jakarta: Internal Publishing.
- Suhadi R, Dewi MA, Haryanti VA. 2010. Perbandingan Kolesterol Total Subyek Karena Perbedaan Durasi Edukasi Hidup Sehat. *Jurnal Penelitian* Vol.14, No.1.
- Sumiwi, Adi S, Mutadi A, Halimah E, Melani R. 2009. *Efek Ekstrak Etanol Herba Seledri (Apium graveolens) Terhadap Kadar Kolesterol Total, Trigliserida, LDL-Kolesterol dan HDL-Kolesterol Pada Tikus Putih Jantan Hiperlipidemia*.
- Sunaryo H, Siska, Sulistioningsih. 2007. Uji Fraksi Kloroform dari Ekstrak Etanol Akar Seledri (*Apium graveolens* L.) pada Penurunan Tekanan Darah. *Dalam Fakta Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Eksakta FMIPA UHAMKA* Vol.3 No.4.
- Talati R, Baker WL, Pabilonia MS, White CM, Coleman CI. 2009. The Effects of Barley-Derived Soluble Fiber On Serum Lipids. *Ann. Fam. Med*, 7(2). P. 157-163.
- Talati R, William LB, Mary SP, Michael W, Craig IC. 2009. The Effects of Barley-Derived Soluble Fiber on Serum Lipids. *Annals of Family Medicine*, Vol.7, No.2.
- Thompson EB. 1990. *Drug Bioscreening Fundamentals Of Drug Evaluation Techniques In Pharmacology*. New York: Graceway Publishing Company, Inc.
- Tjay TH, Rahardja K. 2007. *Obat-obat Penting*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Vinagre CG, Vinagre CM, Pozzi FS, Maranhao RC. 2007. *Influence of Aging on Chylomicron Metabolism*. *Int J Atheroscler*. 2(4); 284-288.
- Widyaningsih W. 2011. Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temugiring (*Curcuma heyneana* val) Terhadap Kadar Trigliserida. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol.1, No.1, 55-65.
- Wirahadikusumah M. 1985. *Biokimia: Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Wells BG. 2009. *Pharmacotherapy Handbook Seventh Edition*. United States: The McGraw-Hill Companies, Inc.

## ANALISIS KADAR KOFEIN DARI SEDIAAN KOPI INSTAN DENGAN METODE TLC-SCANNER (DENSITOMETRI)

Lilik Rahayu Wulandari<sup>1</sup>, Adek Z. Adnan<sup>2</sup>, Erjon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bakti Pertiwi High School of Pharmacy; email: lilikwulandari18@yahoo.com

<sup>2</sup>Faculty of Pharmacy, Andalas University

### ABSTRACT

The amount levels of caffeine in three certain coffee brands found in the Palembang market were determined using TLC-Scanner (Densitometry) method. Caffeine were extracted from other constituents by methanol. Methanol extracts were separated by TLC-Method using Silicagel GF<sub>254</sub> as stationary phase and the mixture of dichloromethane and methanol (9.5 : 0.5) as mobile phase. The chromatogram showed a single compound spot with R<sub>f</sub> value of 0.56. Analysis of caffeine from S-1, S-2, S-3-sample by TLC-Scanner methods gave results of 36.08, 72.677, 44.505 mg/sachet respectively. Validation of analysis methods gave an accuracy of 98.8 %, LOD value of 1.4184 and LOQ value of 1024.1444 µg/ml. It can be concluded that TLC-Scanner is an accurate, precise, rapid, simple and suitable method for routine quality-control of caffeine level in instant coffee brands.

Keywords: *Caffeine, Instant Coffee Drink, TLC-Scanner*

### PENDAHULUAN

Kopi memang telah menjadi minuman terbanyak setelah air putih yang dikonsumsi oleh manusia di bumi ini. Ada banyak alasan kenapa orang suka minum kopi, mungkin karena kenikmatan rasa dan aromanya atau mungkin juga karena manfaat kopi bagi kesehatan atau karena kedua-duanya. Sebagian besar pecinta kopi di dunia adalah kaum laki-laki walau tak sedikit pula kaum perempuan yang tak rela melewati pagi tanpa segelas kopi (Rampengan, 1985).

Jika melihat dari komposisi minuman berenergi, maka perlu diperhatikan kandungan kafein. Mengutip beberapa hasil penelitian, dosis 100-150 mg kafein merupakan batas aman konsumsi manusia. Berdasarkan keputusan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No.HK.00.05.23.3644 batas maksimal kadar kafein yang diperbolehkan dalam makanan dan minuman berenergi adalah 150 mg per hari. Batas aman untuk kadar kafein dalam minuman penambah energi tidak boleh melebihi 50 mg per satu kali minum.

Kafein merupakan alkaloida turunan xantin, yaitu 1,3,7-trimetilxantin, bersifat

asam lemah dan berkhasiat menstimulasi susunan saraf pusat, diuretik, stimulasi otot jantung yang telah lama dimanfaatkan orang. Dalam dosis rendah dapat meningkatkan kewaspadaan psikis. Kafein adalah stimulan yang paling populer di dunia. Pemakaian dalam bidang farmasi sangat luas biasanya dikombinasi dengan analgetik (Mutschler, 1995).

Kafein merupakan senyawa kimia alkaloid terkandung secara alami pada lebih dari 60 jenis tanaman terutama teh (1- 4,8 %), kopi (1-1,5 %), dan biji kola(2,7-3,6 %). Kafein diproduksi secara komersial dengan cara ekstraksi dari tanaman tertentu serta diproduksi secara sintesis. Kebanyakan produksi kafein bertujuan untuk memenuhi kebutuhan industri minuman. Kafein juga digunakan sebagai penguat rasa atau bumbu pada berbagai industri makanan (Misra *et al*, 2008).

Dalam penelitian ini akan dilakukan penentuan kadar kafein dari sediaan kopi instan yang beredar dipasaran dengan metode TLC-Scanner (Densitometry).

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan november 2012 sampai bulan mei 2013, di Laboratorium Kimia Farmasi dan Sentral Fakultas Farmasi, Universitas Andalas Padang

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah UV Lamps 254 nm, Camag TLC Scanner 4 dengan software WinCat, spektrofotometer inframerah thermo-Nicolet iS10 (Merck), spektrofotometer UV shimidzu uv-7000 pharmaspec (erkck), Pipet Kapiler (ukuran 2  $\mu$ L, 1  $\mu$ L), Chamber, sonikator, gelas ukur, labu takar, erlemeyer, pipet gondok, beaker gelas, batang pengaduk dari gelas, corong gelas, kertas saring whatman, dan pipet tetes.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah plat KLT silika gel GF 254 (Merck), diklorometan, metanol, kofein baku pembanding (PT. Kimia Farma), kopi instan.

### Pemeriksaan Senyawa Pembanding

#### a. Identifikasi dengan KLT

Diambil sedikit larutan kofein hasil ekstraksi dan kofein pembanding yang telah dilarutkan dalam metanol. Ditotolkan pada KLT, dimasukkan dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Kromatogram ini dilihat dibawah lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm.

#### b. Identifikasi dengan Spektrofotometri Infra Merah

Identifikasi IR pada kofein menggunakan serbuk kofein pembanding. Dengan alat bermerek thermo-Nicolet iS10 dan memberikan pita serapan.

#### a. Identifikasi dengan UV-VIS

Identifikasi kofein dengan spectrofotometer uv dengan menggunakan alat bermerek shimidzu uv-7000 pharmaspec dengan memakai larutan induk 401,12  $\mu$ g/25

ml baku standar dalam metanol,memberikan panjang gelombang 273,2 nm dengan serapan 0.482 dan sama dengan informasi dari literatur bahwa kofein mempunyai panjang gelombang 273 nm, (Hvorost Alex, 2002).

### Penyiapan Kurva Kalibrasi

#### a. Pembuatan Larutan Induk Kofein

timbang seksama 250.7 mg kofein baku pembanding, masukkan kedalam labu ukur 25 ml, dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 25 ml, kemudian ditambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10028  $\mu$ g/25 ml (larutan A). Diambil 1 ml larutan A dimasukkan dalam labu ukur 25 ml ditambahkan metanol sampai tanda batas diperoleh larutan dengan konsentrasi 401,12  $\mu$ g/25 ml (larutan B).

#### b. Pembuatan Larutan Baku Standar

Dibuat seri pengenceran dari larutan baku 320,896  $\mu$ g/5 ml ; 240,672  $\mu$ g/5 ml ; 160,448  $\mu$ g/5 ml; 80,224  $\mu$ g/5 ml; 40,112  $\mu$ g/5 ml :

1. Di pipet sebanyak 4 ml larutan B dan di masukan dalam labu ukur 5 ml kemudian tambahkan metanol sampai tanda batas (larutan C dengan konsentrasi 320,896  $\mu$ g/5 ml ).
2. Di pipet sebanyak 3 ml larutan B dan di masukan dalam labu ukur 5 ml kemudian tambahkan metanol sampai sampai tanda batas. (larutan D dengan konsentrasi 240,672  $\mu$ g/5 ml).
3. Di pipet sebanyak 2 ml larutan B dan di masukan dalam labu ukur 5 ml kemudian tambahkan metanol sampai tanda batas. (larutan E dengan konsentrasi 160,448  $\mu$ g/5 ml).
4. Di pipet sebanyak 1 ml larutan B dan di masukan dalam labu ukur 5 ml kemudian tambahkan metanol sampai tandda batas. (larutan F dengan konsentrasi 80,224  $\mu$ g/5 ml).

5. Di pipet sebanyak 0,5 ml larutan B dan di masukan dalam labu ukur 5 ml kemudian tambahkan metanol sampai tanda batas. (larutan G dengan konsentrasi 40,112 µg/5 ml).
- c. Analisis senyawa kofein dengan TLC-Scanner (Watson, 1999)  
 Disiapkan plat KLT dengan ukuran 20 x 10 cm, dibuat garis penotolan 1 cm dari tepi bawah dan front 1 cm dari tepi atas. Larutan uji ditotolkan masing-masingnya 2 µl pada garis awal dengan jarak penotolan masing-masingnya 1,5 cm (tiga kali pengulangan). Plat KLT dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi fase gerak DCM : Metanol (9,5 : 0,5) setinggi 1/2 cm, chamber ditutup dibiarkan sehingga fase gerak bergerak sampai mencapai garis front. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikering anginkan. Kemudian diamati dibawah lampu UV 254 nm. Kemudian bercak discanning dengan  $\lambda$  254 nm dan didapat data luas histogram dari senyawa pembanding.

### Metoda Ekstraksi Kofein

Sebanyak 10 sachet kopi instan setiap merk gerus kemudian ditimbang dengan seksama, lalu dihitung berat rata-ratanya. Sebanyak 8 g sampel kopi ditimbang dalam rangkap tiga dan masukkan dalam gelas beker 250 ml. 20 ml metanol ditambahkan dan disonikator selama empat menit, larutan didinginkan dan disaring dengan kertas saring whatman, ampas kopi ditambah metanol 10 ml dan disonikator selama empat menit, larutan didinginkan dan disaring dengan kertas saring whatman (dilakukan tiga kali pengulangan) kemudian dicukupkan sampai volume 100 ml.

### Identifikasi Kofein Hasil Ekstraksi

- a. Identifikasi dengan KLT  
 Diambil 2 µl larutan kofein hasil ekstraksi dan kofein pembanding. Ditotolkan pada KLT, dimasukkan dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Kromatogram ini

dilihat dibawah lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm.

### Penentuan Kadar Kofein dengan metoda TLC-Scanner

Siapkan plat KLT dengan ukuran 20 x 10 cm, buat garis penotolan 1 cm dari tepi bawah dan front 1 cm dari atas. Larutan uji kofein hasil ekstaksi yang telah dilarutkan secara kuantitatif di dalam labu takar 100 ml ditotolkan masing-masingnya 2 µl pada garis awal dengan jarak penotolan masing-masingnya 1,5 cm (tiga kali pengulangan). plat KLT dimasukkan kedalam chamber yang telah terisi fase gerak yang sesuai setinggi 1/2 cm, chamber ditutup dibiarkan sehingga fase gerak bergerak sampai mencapai garis front. Chamber dibuka, plat KLT diambil dan dikering anginkan. Kemudian diamati dibawah lampu UV 254 nm. Kemudian bercak discanning dengan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan didapat data luas histogram dari senyawa uji (dilakukan pengulangan 3x). Luas puncak dimasukkan dalam persamaan regresi yang diperoleh dari perhitungan luas puncak pada konsentrasi senyawa standar, maka didapatkan kadar senyawa.

### Validasi metoda

- a. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kunitasi (LOG)

Ditentukan persamaan regresi untuk penentuan linearitas, nilai *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantification* (LOQ) dari kopi instan yang didapat dari analisis senyawa pembanding. LOD ditentukan dengan persamaan regresi (3xSD) dan LOQ dengan persamaan regresi (10xSD).

- b. Uji Perolehan Kembali

Penentuan persentase perolehan kembali dilakukan pada sediaan kopi instan dengan teknik penambahan bahan baku standar (*standar addition method*) sebesar 40, 80 dan 120 %. Caranya adalah sampel kopi instan masing-masing ditimbang 8 g dan diekstraksi dengan menambahkan 20



ml metanol kemudian penambahan bahan baku 40, 80 dan 120 % dalam sampel dan disonikator selama empat menit, larutan didinginkan dan disaring dengan kertas saring whatman, ampas kopi ditambah metanol 10 ml dan disonikator selama empat menit, larutan didinginkan dan disaring dengan kertas saring whatman

(dilakukan tiga kali pengulangan) kemudian dicukupkan sampai volume 100 ml, larutan ditotolkan pada plat KLT dengan volume totolan 2  $\mu$ L, kemudian bercak discanning dengan sinar dengan panjang gelombang 254 nm. Setelah itu ditentukan nilai % perolehan kembali dengan penambahan bahan baku standar 0, 40, 80, dan 120 %.

## HASIL DAN DISKUSI

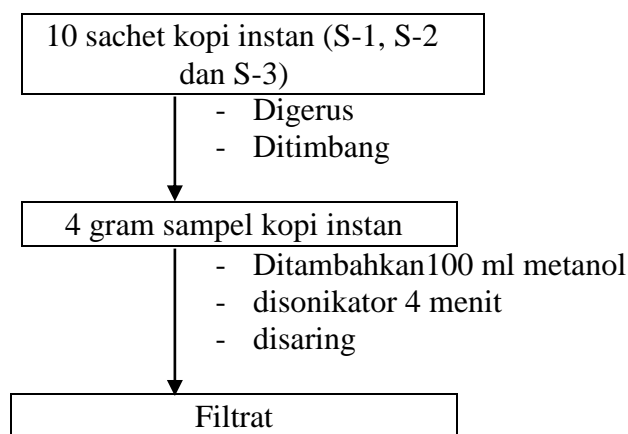
Penentuan kualitatif kafein 401,12  $\mu$ g/ml dengan pelarut metanol, pengembang DCM : Metanol (9,5 : 0,5), jarak pengembangan 8 cm dan waktu pengembangan  $\pm 15$  menit. Terlihat hasil bentuk noda baik, untuk Cofein dengan nilai  $R_f$  0,56.

Identifikasi kafein dengan spektrofotometer inframerah menggunakan serbuk kafein pembanding memberikan pita serapan 2945 (regang C = H), 1689 (regang C = O), 1652 (regang C = C), 1544  $\text{cm}^{-1}$  (regang C = N).

Identifikasi kafein dengan spektrofotometer UV-VIS dengan pelarut metanol, memberikan panjang gelombang 273,2 nm.

Metoda yang digunakan untuk analisis kafein adalah dengan mengekstraksi kafein dari kopi instan dengan KLT-Densitometri dengan plat KLT Silika Gel 60 F<sub>254</sub>, pelarut metanol, pengembang DCM : metanol (9,5 : 0,5), jarak pengembangan 8 cm, totolan awal pada koordinat x = 1 cm dan y = 1 cm, jarak antara totolan 1,5 cm, volume setiap totolan 2  $\mu$ L, panjang gelombang 254 nm diperoleh nilai  $R_f$  dari puncak-puncak kromatogram untuk

Cofein 0,79.



Gambar 1. Skema Kerja Ekstraksi Kafein

Scanning larutan standar kafein dengan kadar 320,896; 240,672; 160,448; 80,224; 40,112  $\mu$ g/ml, memberikan luas histogram berturut-turut 6493,5; 5257,4; 5215,2; 3748,8; 4131,6. Pengolahan dengan data program Excel diperoleh persamaan regresi dari kafein dengan nilai  $y = 3564,170 +$

8,158 x dan koefisien korelasi  $R = 0,95761$ . Analisis kafein standar pada interval kadar pengukuran ternyata memberikan koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan. Kurva kalibrasi kafein standar ditampilkan pada Gambar 2.

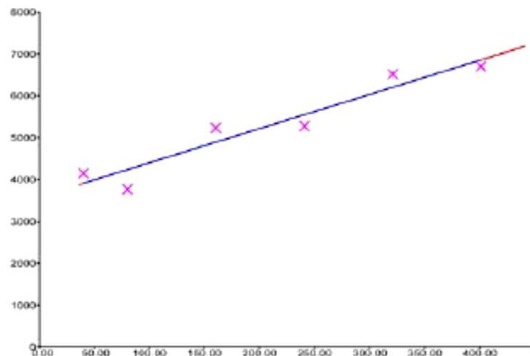
Substance: Caffeine @ 254 nm

Regression via area: Linear

$$Y = 3564.170 + 8.158 X$$

$$r = 0.95761 \text{ sdv} = 7.31$$

Track	Vial	Rf	Amount	Height	X(Calc)	Area	X(Calc)	SampleID/Remark
1	1	0.80	401.12 µg			6682.26		
2	2	0.80	320.90 µg			6493.46		
3	3	0.79	240.67 µg			5257.35		
4	4	0.79	160.45 µg			5215.50		
5	5	0.79	80.22 µg			3748.81		
6	6	0.79	40.11 µg			4131.55		
7	7	0.80				1036.31		<36.10 µg Sampel 1
8	8	0.81				1036.44		<36.10 µg Sampel 2
9	9	0.82				777.43		<36.10 µg Sampel 3



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Kofein standard

Nilai *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantification* (LOQ) diperoleh dari perhitungan simpangan baku dari konsentrasi standar. Nilai LOD dan LOQ untuk kofein dengan nilai 1,4184 µg/ml dan 1024,1444 µg/ml.

Penentuan persentase (%) perolehan kembali untuk sampel S-1 dengan teknik penambahan

bahan baku standar sebanyak 40, 80, dan 120 %. Diperoleh % perolehan kembali sampel untuk kofein penambahan baku standar 40% sebesar 98,8 %, 80 % sebesar 62,16 %, 120 % sebesar 40,90 %.

Hasil penetapan kadar kofein dari tiga merek dagang kopi instan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penetapan Kadar Kofein minuman berenergi dengan MetodaTLC-Scanner.

Sampel	Luas histogram	Rf	X	%	Jumlah kofein dalam satu sachet	SD	% Rata-rata
S-1	1676,6	0,44	231,37	0,57 %	36,08 mg	0,107858	(0,446 ± 0,107858) %
	2206,52	0,42	166,41	0,40 %			
	2315,4	0,42	153,07	0,37 %			
S-2	1829,36	0,45	212,65	0,86 %	72,677 mg	0,128582	(0,91 ± 0,128582) %
	1908,26	0,48	202,97	0,82 %			
	1428,9	0,83	261,73	1,06%			
S-3	1891,775	0,32	162,73	0,52 %	44,505 mg	0,07	(0,55 ± 0,07) %
	1968,025	0,30	195,65	0,63 %			
	2306,25	0,29	154,34	0,50 %			

## KESIMPULAN

1. Thin Layer Chromatografi Scanner (densitometry) dapat digunakan untuk menentukan kadar kafein didalam sediaan dengan tingkat akurasi sebesar 98.8 %, serta nilai LOD sebesar 1,4184 µg/ml dan LOQ sebesar 1024,1444 µg/ml .
2. Jumlah kafein dari setiap sachet sediaan kopi instan adalah S-1, S-2 dan S-3 berturut-turut 36,08; 72,677; 44,505 mg.
3. Kadar kafein tertinggi terdapat pada S-2 dengan jumlah kafein yaitu 72,677 mg.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Surat Keputusan (2004). No. HK.00.05.23.3364 tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Suplemen Makanan
- Hvorost, Alex. (2002). *The Complete Drug Reference*. United State Of London: Martindale.
- Misra H, D. Mehta, B.K. Mehta, M. Soni, D.C. Jain. (2008). Study of Extraction and HPTLC – UV Method for Estimation of Caffeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules. *International Journal of Green Pharmacy*: 47-51.
- Mutschler, E. (1995). *Dinamika Obat*, Edisi kelima, diterjemahkan oleh Mathilda, B. W, Penerbit ITB Bandung.
- Rampengan, V.J. Pontoh dan D.T. Sembel., (1985). *Dasar-dasar Pengawasan Mutu Pangan*. Badan Kerjasama Perguruan Tinggi Negeri Indonesia Bagian Timur, Ujung Pandang.
- Waston, DG (1999). *Pharmaceutical Analysis: A textbook for pharmacy student and pharmaceutical chemists*, Harcourt Publishers, New York.

## UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN TAPAK DARA (*Catharantus roseus* L) TERHADAP KADAR KOLESTEROL TOTAL DARAH MENCIT PUTIH JANTAN

Surya Dharma\*, Detri Cory Fitri D\*\*, Eka Fitrianda\*\*

\*Fakultas farmasi Universitas Andalas Padang

\*\*Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

### ABSTRACT

The research had been done to investigate the influence of ethanolic extract of *Catharantus roseus* L on decreasing amount of total blood cholesterol on mice. The amount of total blood cholesterol was optimized by giving high cholesterol diet (HCD), PTU tablet and chicken bile for 30 days. The ethanolic extract of *Catharantus roseus* L was given daily in dispersed form of Na CMC 0,5% with various doses of 30, 100, and 300 mg/kg WB of mice. Amount of total blood cholesterol of mice was measured at the 10<sup>th</sup>, 20<sup>th</sup>, and 30<sup>th</sup> day by using enzymatical method with Spektrofotometer Microlab®. The result showed that ethanolic extract of *Catharantus roseus* L leaves at three variety doses of 30, 100, and 300 mg/kg WB could decrease amount of total blood cholesterol of mice significantly ( $P < 0,05$ ).

**Keywords :** *total cholesterol, Catharantus roseus, female albino mice*

### PENDAHULUAN

Tanaman tapak dara (*Catharantus roseus* L) umumnya ditanam sebagai tanaman hias dan merupakan jenis tanaman yang dapat tumbuh di tempat terbuka atau terlindung pada bermacam-macam iklim, ditemukan dari dataran rendah sampai ketinggian 800 di atas permukaan laut. Tanaman ini mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan berbagai macam alkaloid seperti alkaloid vinblastin, vinkristin, dan leurosidin. Tapak dara (*Catharantus roseus* L) adalah salah satu dari sekian banyak tanaman yang telah dimanfaatkan sebagai obat. Secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan penyakit malaria, sembelit, diuretika, diabetes melitus, hipertensi dan hiperkolesterol (Dalimartha, 2008; Depkes, 1995; Ganiswara, 1995; Champe, 2010).

Kolesterol adalah salah satu lipid plasma yang utama dibutuhkan tubuh karena merupakan komponen struktural membran sel dan bahan awal pembentukan asam

empedu serta hormon steroid. Senyawa ini diperoleh tubuh dari kolesterol yang terdapat dalam makanan dan dari biosintesis dalam tubuh terutama di hati. Sumber pembentukan kolesterol adalah asetil-KoA yang dapat berasal dari senyawa karbohidrat (glukosa) dan lemak, terutama asam lemak jenuh. Menurut Murray (1997), kolesterol seperti halnya juga lipid plasma lainnya ditranspor dalam bentuk lipoprotein, terutama Low Density Lipoprotein (LDL), dan High Density Lipoprotein (HDL).

LDL merupakan lipoprotein utama pembawa kolesterol dalam plasma, mengandung  $\pm 50\%$  kolesterol dan berfungsi mengangkut kolesterol dari darah ke jaringan perifer. Kadar LDL dapat meningkat bila pemasukan kolesterol ke dalam tubuh tinggi, karena sebagian besar kolesterol darah berada dalam bentuk LDL, sedangkan HDL adalah lipoprotein yang mempunyai densitas lebih tinggi dari LDL karena komponen proteinnya lebih besar  $\pm 50\%$  dari pada trigliserida dan

kolesterolnya. HDL berperan sebagai pembawa kolesterol dari jaringan perifer ke hati untuk selanjutnya di buang ke dalam empedu dan diekskresikan melalui feses. HDL sering disebut sebagai faktor pelindung dan homeostasis sirkulasi kolesterol dalam tubuh (Murray,1997, Kamaludin,1993,Katzung,2010). Apabila terjadi peningkatan kadar kolesterol darah yang tidak diikuti oleh pengeluaran yang seimbang maka akan terjadi penumpukan senyawa ini pada dinding pembuluh darah, dimana lama kelamaan akan menimbulkan penyempitan pembuluh darah tersebut. Jika hal ini terjadi pada pembuluh darah koroner,

maka akan mengganggu suplai darah ke otot jantung yang dapat mengganggu fungsi jantung. Gangguan fungsi jantung dapat menimbulkan penyakit jantung koroner yang merupakan penyebab kematian utama di dunia, termasuk Indonesia (Rifdah, 2012, Goodman, 2007, Guyton, 2007)

Berdasarkan hal-hal tersebut diatas penelitian ini dilakukan pengujian untuk mengetahui sejauh mana pengaruh pemberian ekstrak etanol daun tapak dara (*Catharantus roseus* L) terhadap kadar kolesterol total darah mencit putih jantan dengan pemberian campuran makanan lemak tinggi (MLT).

## METODE PENELITIAN

### Bahan-Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun tapak dara (*Catharantus roseus* L) segar, etanol 96%, Natrium (Chlor Metyl Cellulose (Na CMC), Makanan Lemak Tinggi (MLT), cairan empedu ayam 2%, propil Tio Urasil (PTU) 1%, dan larutan pereaksi kolesterol.

### Alat-Alat

Alat yang digunakan adalah botol maserasi, timbangan analitik, kandang mencit, timbangan hewan, spektrofotometer Mikrolab®, sentrifuge, tabung sentrifuge, pipet mikro, gelas ukur, sonde, tissue, silet, rotary evaporator, lumpang dan stamper.

### Prosedur penelitian

Pada penelitian ini digunakan dosis 30, 100, dan 300 mg/kg BB.

Sediaan uji dibuat dengan cara disuspensikan ekstrak etanol daun tapak dara dengan Na CMC 0.5 %.

### Pemberian perlakuan pada hewan percobaan

Hewan percobaan yang telah dikelompokkan menjadi 5 kelompok masing – masing diperlakukan sebagai berikut:

Kelompok I : Adalah kelompok kontrol yang hanya diberikan makanan standar saja (kontrol negatif)

Kelompok II : Diberikan makanan Lemak Tinggi (MLT), cairan empedu, dan PTU.

Kelompok III : Diberikan MLT, cairan empedu, dan PTU + ekstrak etanol daun tapak dara dosis 30 mg/kgBB

Kelompok IV : Diberikan MLT, cairan empedu, dan PTU + ekstrak dosis 100 mg/kg BB

Kelompok V : Diberikan MLT, cairan empedu, dan PTU + ekstrak dosis 300 mg/kg BB

Pemberian campuran MLT dan ekstrak etanol daun tapak dara sekali sehari per oral menggunakan sonde , selama 29 hari.

### Pengukuran kadar kolesterol total darah

Metode pengukuran yang akan digunakan adalah metoda enzimatik, dengan periode pengukuran setiap 10 hari dengan cara sebagai berikut :

Darah diambil dengan cara memotong pembuluh darah leher mencit dan ditampung dalam tabung sentrifus sebanyak 2 ml. Darah tersebut didiamkan selama  $\pm$  20 menit dan disentrifus selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm diperoleh serum. Serum dipipet

sebanyak 10 µl dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan pereaksi kolesterol sebanyak 1000µl lalu dicampurkan. Diukur kadarnya dengan spektrofotometer viseble dengan panjang gelombang 520 nm.

### Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan menggunakan ANOVA dua arah dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

## HASIL DAN DISKUSI

Sebelum penelitian dilaksanakan, sebelumnya mencit yang digunakan diaklimatisasi selama 7 hari. Proses ini bertujuan untuk membiasakan mencit pada kondisi percobaan dan menentukan kelayakan mencit yang digunakan. Dimana mencit yang digunakan tidak mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% selama aklimatisasi. Selama aklimatisasi maupun pada saat perlakuan, mencit diberi makanan standar dan minum yang cukup. Untuk pengoptimalan kadar kolesterol total mencit diberikan cairan empedu ayam 2% dan PTU 1% dan MLT

MLT yang digunakan merupakan campuran lemak daging sapi dengan minyak goreng dengan perbandingan 1 : 5 yang terbukti dapat meningkatkan kadar kolesterol darah secara signifikan setelah pemberian 10 hari. Perbandingan ini digunakan karena menghasilkan MLT dengan konsistensi cair dan stabil pada suhu kamar sehingga memudahkan dalam pemberiannya secara per oral menggunakan sonde pada mencit percobaan

Dari hasil penelitian diperoleh kadar kolesterol mencit yang cukup beragam tiap kelompok dengan standar deviasi yang beragam pula. Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan kondisi fisik dan fisiologis tiap individu mencit selama penelitian. Penurunan kadar kolesterol tiap perlakuan tidak dapat diamati langsung tiap minggunya karena menggunakan mencit yang berbeda tiap minggunya. Tetapi penurunan kadar kolesterol diamati dengan perbandingan terhadap kontrol positif.

Pada pengamatan hari ke-10 kelompok kontrol positif kadar kolesterol

totalnya lebih tinggi dari pada kelompok kontrol negatif dan pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun tapak dara dengan dosis 30, 100 dan 300 mg/kg BB mengalami penurunan kadar kolesterol total jika di bandingkan dengan kontrol positif dengan penurunan persentase secara berturut-turut adalah 1,29 %, 6,58 % dan 8,73 % Dimana pada dosis 300 mg/kg BB merupakan persentase yang tinggi dalam penurunan kadar kolesterol total jika dibandingkan dengan kelompok dosis lainnya.

Pada pengamatan hari ke-20 kelompok kontrol negatif menunjukan kadar kolesterol total rata-ratanya adalah 112,6 mg/dl, kemudian mengalami peningkatan pada kelompok kontrol positif dan pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun tapak dara dengan dosis 30, 100 dan 300 mg/kg BB mengalami penurunan kadar kolesterol total jika di bandingkan dengan kontrol positif .

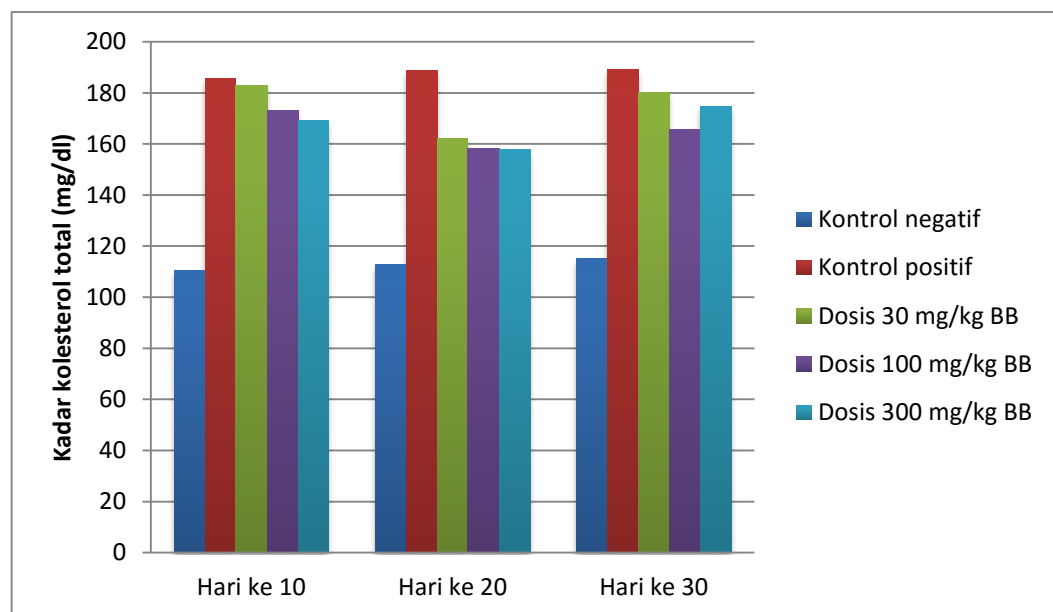
Pada pengamatan hari ke-30 kelompok kontrol negatif menunjukan kadar kolesterol total rata-ratanya adalah 115 mg/dl, kemudian mengalami peningkatan pada kelompok kontrol positif yang kadar kolesterol total rata-ratanya adalah 189,2 mg/dl pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun tapak dara dengan dosis 30, 100 dan 300 mg/kg BB mengalami penurunan kadar kolesterol total jika di bandingkan dengan kontrol positif.

Semua data kadar kolesterol total yang diperoleh, kemudian dilakukan uji analisa varian (ANOVA) dua arah dengan SPSS 17.0 *for Windows*. Hasil analisa menunjukan bahwa faktor perlakuan dosis

memberikan pengaruh yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar kolesterol total darah mencit putih jantan. Faktor waktu pengukuran (lamanya pemberian sediaan) juga memperlihatkan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar kolesterol total darah mencit putih jantan. Dari analisa statistik ini juga dapat dilihat bahwa tidak ada ketergantungan faktor hubungan antara dosis dengan lama pemberian (variabel saling bebas,  $p < 0,05$ ). Setelah dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Tests (DMRT)*, memperlihatkan pengaruh kadar kolesterol total pada dosis 100 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan dosis 300 mg/kg BB, bisa jadi dikarenakan pemberian makan lemak tinggi setiap hari membuat kemampuan ekstrak etanol daun tapak dara tidak mampu lagi untuk menurunkan kadar kolesterol dan terjadinya efek toleransi. ekstrak etanol daun tapak dara pada dosis 100 dan 300 mg/kg BB menunjukan penurunan kadar kolesterol total rata-rata yang baik dan yang memberikan efek penurunan kadar kolesterol total rata-rata yang optimal adalah pada hari ke-20.

Secara keseluruhan dapat dilihat bahwa semakin besar dosis yang digunakan maka kadar kolesterol total darah mencit rata-ratanya semakin kecil pula jika dibandingkan dengan kontrol positif. Mekanisme penurunan kadar kolesterol oleh daun tapak dara ini diduga mirip resin pengikat garam empedu. Dimana resin mengikat asam empedu dalam saluran cerna dan kemudian dikeluarkan melalui feses. Penurunan asam empedu ini akan meningkatkan produksinya dihati yang mana bahan bakunya (prekusornya) adalah kolesterol sehingga akan meningkatkan pengambilan terhadap kolesterol dalam darah (kadar kolesterol darah akan berkurang) (Ganiswara, 1995).

Dari hasil penelitian bahwa pemberian ekstrak etanol daun tapak dara dapat menurunkan kadar kolesterol total darah mencit putih jantan. Sehingga kecenderungan pengendapan kolesterol LDL dalam pembuluh darah dapat dicegah dan kemungkinan terjadinya atherosklerosis dapat dihindari.



Gambar 1. Diagram batang kadar kolesterol total darah mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun *Catharanthus roseus* L pada berbagai dosis.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh ekstrak etanol daun tapak dara terhadap kadar kolesterol total darah mencit putih jantan, maka dapat disimpulkan:

1. Pemberian ekstrak etanol daun tapak dara dengan variasi dosis 30, 100, dan 300 mg/kg BB dapat menurunkan kadar

kolesterol total darah mencit putih jantan dengan signifikan ( $P < 0,05$ ).

2. Efek maksimal penurunan kadar kolesterol darah mencit diperlihatkan pada pemberian dosis 100 dan 300 mg/kg BB pada pengamatan hari ke-20.

## DAFTAR PUSTAKA

- Champe, P.C, Harley, R.A.Harey, Denise R.Ferrier, 2010, *Biokimia Ulasan Bergambar*, Edisi III, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Dalimartha, S., 2008, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid I, Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Departemen kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Materia Medika Indonesia*, (Jilid VI), Depkes RI, Jakarta.
- Ganiswara, S.G, 1995, *Farmakologi dan terapi*, edisi 4, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Goodman dan Gilman, 2007, *Dasar Farmakologi Terapi*, Volume I, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Guyton and Hall, 2007, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi Ke-9, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Kamaludin, M. Totong., 1993, *Cermin Dunia Kedokteran, Farmakoogi Obat Anti Hiperlipidemia*, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang.
- Katzung, B. G., 2010, *Farmakoogi Dasar dan Klinik*, Edisi 10, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Salemba Medika, Jakarta.
- Murray, R.K, D.K Granner, P.A. Mayes and V.W.Rodwell. 1997, *Biokima Harper*, edisi ke-24, Diterjemahkan oleh A.Hartono. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Rifdah, S, 2012, *Pahami Waspada Cegah dan musnahkan kolesterol*, Cable Book, Klaten.



**PENGARUH PERILAKU KERJA, LINGKUNGAN KERJA, DAN INTERAKSI SOSIAL TERHADAP KEPUASAN KERJA DENGAN MOTIVASI SEBAGAI VARIABEL PEMEDIASI (Studi pada Staf Rumah Sakit Umum Daerah Pandan Arang Boyolali)**

**Astri Aslam<sup>1</sup>, Asri Laksmi Riani<sup>2</sup>, Gunawan Pamudji W<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Pascasarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

<sup>2</sup>Program Pascasarjana, Fakultas Ekonomi, Universitas Sebelas Maret

**ABSTRAK**

Optimalisasi dan pengembangan layanan kesehatan di rumah sakit yaitu mempertahankan layanan bermutu tinggi oleh staf rumah sakit. Kunci pokok untuk menjaga layanan yang diberikan staf adalah menjaga kepuasan kerjanya agar tetap dalam taraf yang maksimal. Tujuan dalam penelitian ini adalah menganalisis pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap kepuasan kerja staf di *RSUD Pandan Arang Boyolali* sebelum menggunakan motivasi sebagai variabel mediasi dan sesudah menggunakan variabel motivasi kemudian membandingkannya.

Penelitian dilakukan dengan rancangan penelitian deskriptif. Teknik pengambilan sampel menggunakan pendekatan *Tabachic & Fidell*. Penelitian ini dilakukan melalui survei langsung di lapangan. Pengumpulan data diperoleh melalui kuesioner. Kemudian analisis data menggunakan analisa jalur dengan bantuan Lisrel 9.1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial karyawan masing-masing mempunyai pengaruh yang signifikan dan positif terhadap kepuasan kerja staf di *RSUD Pandan Arang Boyolali*. Perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial karyawan masing-masing mempunyai pengaruh yang signifikan dan positif terhadap motivasi kerja staf di *RSUD Pandan Arang Boyolali*. Motivasi sebagai variabel mediasi dapat meningkatkan pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja staf di *RSUD Pandan Arang Boyolali*.

**Kata kunci:** perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial, motivasi, kepuasan kerja, mediasi

**PENDAHULUAN**

Sebagai momentum optimalisasi dan pengembangan layanan kesehatan di rumah sakit, terlebih dalam memenuhi kebutuhan masyarakat akan layanan kesehatan, pihak rumah sakit mengakui pentingnya mempertahankan layanan bermutu tinggi oleh staf rumah sakit. Kunci pokok untuk menjaga layanan yang diberikan staf adalah menjaga kepuasan kerjanya agar tetap dalam taraf yang maksimal.

Alasan penelitian tentang pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap kepuasan karyawan dengan motivasi sebagai variabel mediasi di *RSUD Pandan Arang Boyolali* adalah untuk

meningkatkan ketiga variabel independen yaitu perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial melalui pemberian motivasi kepada karyawan. Manullang (1991) menyatakan bahwa, motivasi adalah memberikan daya perangsang kepada karyawan yang bersangkutan agar karyawan tersebut bekerja dengan segala daya dan upayanya. Segala daya dan upaya yang dikerahkan akan memunculkan bentuk emosi dalam diri karyawan *RSUD Pandan Arang Boyolali*. Bisa saja bentuk emosi ini adalah kepuasan karyawan terhadap hasil karya dan kinerjanya ketika melaksanakan tanggung jawab di *RSUD Pandan Arang Boyolali*.

Faktor lain yang dapat memicu emosi pegawai adalah lingkungan kerja. Menurut Mardiana (2005), lingkungan kerja adalah lingkungan dimana pegawai melakukan pekerjaannya sehari-hari. Lingkungan kerja yang kondusif memberikan rasa aman dan memungkinkan para pegawai untuk dapat bekerja optimal. Didukung juga dengan interaksi yang terjadi diantara karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali. karena interaksi adalah suatu pertalian sosial antar individu sehingga individu yang bersangkutan saling mempengaruhi satu sama lain (Chaplin 1995). Ketiga variabel

independen tersebut dalam mempengaruhi kepuasan kerja dapat diperkuat oleh motivasi.

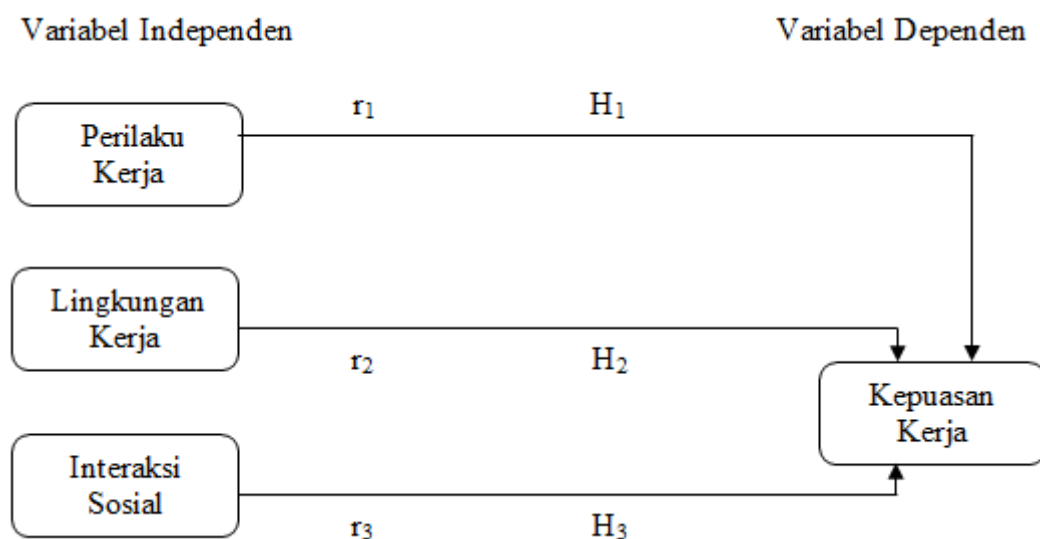
Tujuan dalam penelitian ini adalah menganalisis pengaruh perilaku, lingkungan kerja, interaksi sosial, masing-masing terhadap kepuasan kerja staf di RSUD Pandan Arang Boyolali, dan menganalisis perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial karyawan masing-masing berpengaruh lebih besar terhadap kepuasan kerja yang dengan motivasi sebagai variabel mediasi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan rancangan penelitian deskriptif yang dilakukan di RSUD Pandan Arang Boyolali dan bersifat asosiatif yang dimaksud untuk melakukan penelitian yang bersifat menyatakan hubungan antara dua variabel atau lebih. Studi kasus penelitian ini dilakukan terhadap perilaku kerja, lingkungan kerja, motivasi dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja staf rumah sakit.

Data penelitian ini merupakan data kuantitatif sebagai hasil mengubah jawaban responden menjadi satuan kuantitatif atau angka-angka. Data kuantitatif yang diperoleh merupakan hasil dari survei secara individu melalui kuesioner yang diberikan kepada responden. Hasil penelitian asosiatif sebagai kesimpulan dan merupakan masukan untuk pengambilan keputusan.

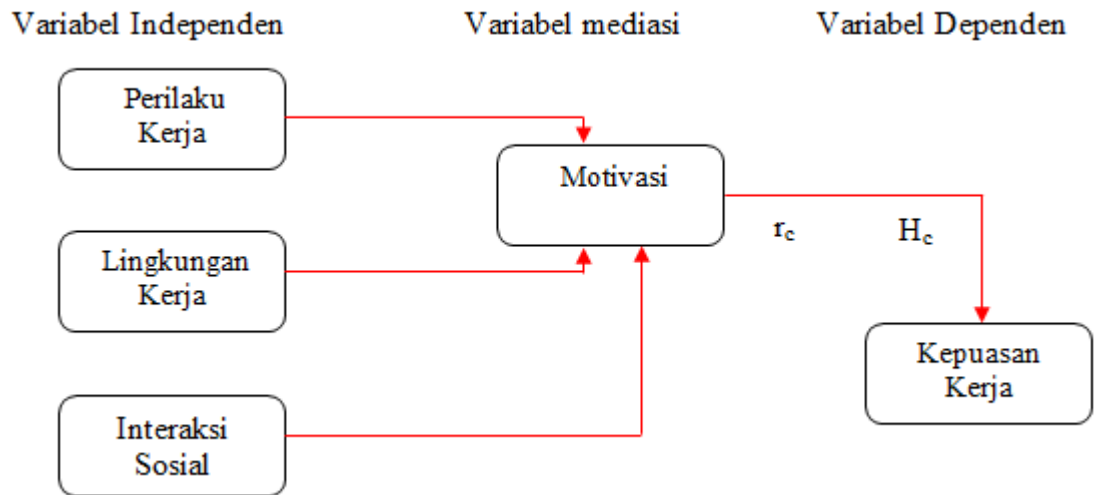
### Paradigma Penelitian



Gambar 1. Pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja

Keterangan:

- $r_1$  : Koefisien korelasi antara perilaku kerja terhadap kepuasan kerja  
 $r_2$  : Koefisien korelasi antara lingkungan kerja terhadap kepuasan kerja  
 $r_3$  : Koefisien korelasi antara interaksi sosial terhadap kepuasan kerja  
 $H_1$  : — Pengaruh perilaku kerja terhadap kepuasan kerja  
 $H_2$  : — Pengaruh lingkungan kerja terhadap kepuasan kerja  
 $H_3$  : — Pengaruh interaksi sosial terhadap kepuasan kerja



Gambar 2. Pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja dengan motivasi sebagai variabel mediasi

Keterangan:

- $r_c$  : Koefisien perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja dengan motivasi sebagai variabel mediasi  
 $H_c$  : Pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja dengan motivasi sebagai variabel mediasi

Analisis data adalah proses mengolah data dan menginterpretasi hasil pengolahan data. Adapun teknik analisa yang digunakan yaitu dengan menggunakan bantuan Lisrel 9.1 Model analisa jalur digunakan untuk

menilai pengaruh multivariasi antara masing – masing variabel perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja yang dimediasi oleh motivasi.

## HASIL DAN DISKUSI

**Hubungan perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial masing-masing terhadap kepuasan karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Berdasarkan analisa data dengan menggunakan program Lisrel diperoleh nilai

estimasi dan signifikansi dari ketiga variabel yaitu perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial masing-masing terhadap kepuasan kerja. Hasil uji dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 1. Nilai estimasi dan signifikansi dari variabel perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap kepuasan kerja**

Dimensi	Nilai Estimasi	t Hitung	Keterangan
Perilaku kerja	0,191	5,920	Pengaruh Signifikan
Lingkungan kerja	0,520	20,093	Pengaruh Signifikan
Interaksi sosial	0,287	10,392	Pengaruh Signifikan

Sumber : data diolah 2013

Berdasarkan gambar dan tabel diatas terlihat bahwa nilai estimasi masing-masing variabel adalah perilaku kerja sebesar 0,19 dengan t hitung sebesar 5,920, lingkungan kerja sebesar 0,52 dengan t hitung sebesar 20,093, interaksi sosial sebesar 0,29 dengan t hitung sebesar 10,392. Hal ini memiliki makna bahwa ketiga variabel memiliki hubungan yang cukup terhadap kepuasan kerja dan memiliki pengaruh signifikan (t hitung > 1,96).

#### **Pengaruh perilaku kerja terhadap kepuasan karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Perilaku kerja karyawan yang benar dan tertib dapat mempengaruhi kepuasan kerja mereka ( $5,920 > 1,96$ ), sehingga perilaku yang lebih baik yang akan memberikan pengaruh yang positif terhadap kepuasan kerjanya. Besar pengaruh perilaku kerja terhadap kepuasan kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali adalah sebesar 19%. Secara umum pegawai negeri di satuan kerja RSUD Pandan Arang Boyolali berusaha menempatkan dirinya ditempat kerja sesuai dengan tugas pokok dan fungsi yang telah ditetapkan oleh pihak manajemen yang mengatur seluruh perilaku dan kegiatan operasional karyawan di RSUD Pandan Arang Boyolali.

Sejalan dengan hasil penelitian Rachman *et al.* (2013) menunjukkan adanya hubungan positif antara perilaku dengan kepuasan kerja perawat di RSUD Syekh Yusuf Kabupaten Gowa. Perilaku kerja tersebut meliputi komunikasi, tim kerja, konflik, kepemimpinan, dan pembuatan keputusan.

#### **Pengaruh lingkungan kerja terhadap kepuasan karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Faktor lain yang dapat mempengaruhi kepuasan kerja adalah lingkungan kerja. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh secara signifikan antara variabel lingkungan kerja terhadap kepuasan kerja pada karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali ( $20,093 > 1,96$ ) Besar pengaruh lingkungan kerja terhadap kepuasan kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali adalah sebesar 52%. Jika karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali dalam memberikan layanan kesehatan, ditempatkan pada lingkungan kerja yang kondusif dan memadai, hal ini tidak hanya akan berdampak pada layanan yang diberikan kepada masyarakat, akan tetapi juga memberi kemudahan dan kenyamanan bagi karyawan di RSUD Pandan Arang Boyolali. Semakin nyaman lingkungan kerja di RSUD Pandan Arang Boyolali mengakibatkan semakin meningkat pula kepuasan kerja pada karyawan.

Sejalan dengan hasil penelitian Gatot (2005) menunjukkan adanya pengaruh secara signifikan antara variabel lingkungan kerja terhadap variabel kepuasan kerja pada perawat di Instalasi Rawat Inap RSUD Gunung Jati Cirebon. Penelitian tersebut menyatakan bahwa faktor lingkungan pekerjaan terbukti sebagai sumber ketidakpuasan pada seseorang, bila faktor ini dipenuhi maka akan mengurangi atau menghilangkan ketidakpuasan.

#### **Pengaruh interaksi sosial terhadap kepuasan karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi sosial berpengaruh secara positif dan signifikan

terhadap kepuasan karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali ( $10,392 > 1,96$ ). Besar pengaruh interaksi sosial terhadap kepuasan kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali adalah sebesar 29%. Karyawan di RSUD Pandan Arang Boyolali merasa diuntungkan jika tanggung jawab pekerjaan dapat dibagikan kepada rekan-rekan kerja yang lain. Melalui kerjasama inilah karyawan dapat berinteraksi dengan rekan kerja. Terjalannya interaksi yang intens antar karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali akan lebih mempererat hubungan kerjasama di antara mereka. Hal inilah yang kemudian menyebabkan karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali dapat mengaktualisasikan diri baik itu dalam interaksi mereka terhadap sesama karyawan maupun terhadap tugas dan tanggung jawab mereka sebagai karyawan di RSUD Pandan Arang Boyolali.

Penelitian oleh Ravari *et al* (2012) menyebutkan bahwa faktor sosial mempunyai pengaruh yang positif terhadap kepuasan kerja perawat di Rumah Sakit Iran, dan juga terbukti bahwa interaksi dengan atasan mempunyai pengaruh yang paling kuat terhadap kepuasan kerja karyawan.

### **Hubungan perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial masing-masing terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Berdasarkan analisa data dengan menggunakan program Lisrel diperoleh nilai estimasi dan signifikansi dari ketiga variabel yaitu perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial masing-masing terhadap motivasi. Hasil uji dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 2. Nilai estimasi dan signifikansi dari variabel perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap motivasi kerja**

<b>Dimensi</b>	<b>Nilai Estimasi</b>	<b>t Hitung</b>	<b>Keterangan</b>
Perilaku kerja	0,239	2,527	Pengaruh Signifikan
Lingkungan kerja	0,288	2,306	Pengaruh Signifikan
Interaksi sosial	0,265	1,985	Pengaruh Signifikan

Sumber : data diolah 2013

Berdasarkan gambar dan tabel diatas terlihat bahwa nilai estimasi masing-masing variabel adalah perilaku kerja sebesar 0,24 dengan t hitung sebesar 2,527, lingkungan kerja sebesar 0,29 dengan t hitung sebesar 2,306, interaksi sosial sebesar 0,27 dengan t hitung sebesar 1,985. Hal ini memiliki makna bahwa ketiga variabel memiliki hubungan yang cukup terhadap kepuasan kerja dan memiliki pengaruh signifikan ( $t \text{ hitung} > 1,96$ ).

### **Pengaruh perilaku kerja terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perilaku kerja berpengaruh positif dan signifikan terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali ( $2,527 > 1,96$ ). Besar pengaruh perilaku kerja terhadap motivasi kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali adalah sebesar 24%. Perilaku

kerja yang benar dan tertib dapat meningkatkan motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali untuk lebih memberikan tenaganya guna kemajuan rumah sakit. Motivasi ini berasal dari dalam diri karyawan yang tercermin dari perilaku kerjanya yang penuh semangat ketika RSUD Pandan Arang Boyolali menetapkan suatu tugas tanggung jawab kepada karyawan. Karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali yang selalu tertib dan berperilaku sesuai aturan, biasanya termotivasi untuk mendapatkan penghargaan maupun *reward* dari RSUD Pandan Arang Boyolali.

Menurut Suswati (2012), perilaku kerja yang terdapat dalam budaya organisasi berpengaruh terhadap motivasi dan kepuasan kerja serta kinerja bidan pada RSUD Tapal Kuda, Jawa Timur. Dalam kehidupan sehari-hari seseorang sebelum memiliki motivasi akan didahului oleh motif yang ada pada dirinya. Pemenuhan terhadap kebutuhan

motivasi tidak terelakkan bagi semua karyawan sebab apabila motivasi terpenuhi dengan baik akan muncul kepuasan kerja dan pada giliran berikutnya akan berdampak pada ketenangan kerjanya dan perilaku kerjanya.

#### **Pengaruh lingkungan kerja terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lingkungan kerja berpengaruh terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali ( $2,306 > 1,96$ ). Besar pengaruh lingkungan kerja terhadap motivasi kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali adalah sebesar 29%. Lingkungan kerja yang sehat, dapat dijadikan dasar bagi karyawan untuk mengembangkan kinerja demi tercapainya tujuan RSUD Pandan Arang Boyolali. Lingkungan kerja dapat memotivasi karyawan agar dapat meningkatkan dan mengembangkan lingkungan tempatnya bekerja guna mencapai tujuan dan hakekatnya dalam melaksanakan tugas dan tanggung jawabnya.

Hasil penelitian ini mendukung penelitian Franco *et al.*, (2000) yang menyebutkan bahwa budaya organisasi dan kondisi lingkungan kerja sebagai penentu dan berpengaruh terhadap motivasi kerja pegawai kesehatan masyarakat di Rumah Sakit Jordanian.

#### **Pengaruh interaksi sosial terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali.**

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi sosial berpengaruh secara signifikan terhadap motivasi karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali ( $1,985 > 1,96$ ). Besar pengaruh interaksi sosial terhadap motivasi kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali adalah sebesar 27%. Hal ini bisa dilihat bahwa setiap interaksi yang terjadi diantara karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali secara tidak langsung akan memotivasi karyawan tersebut untuk tetap eksis di RSUD Pandan Arang Boyolali.

Penelitian yang dilakukan oleh Ferreira *et al.* (2011) menyebutkan bahwa

terdapat hubungan positif yang sangat signifikan antara interaksi sosial dengan motivasi. Interaksi sosial dapat diartikan sebagai hubungan-hubungan sosial yang dinamis.

#### **Hubungan perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap kepuasan kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali dengan motivasi sebagai variabel mediasi dapat meningkat.**

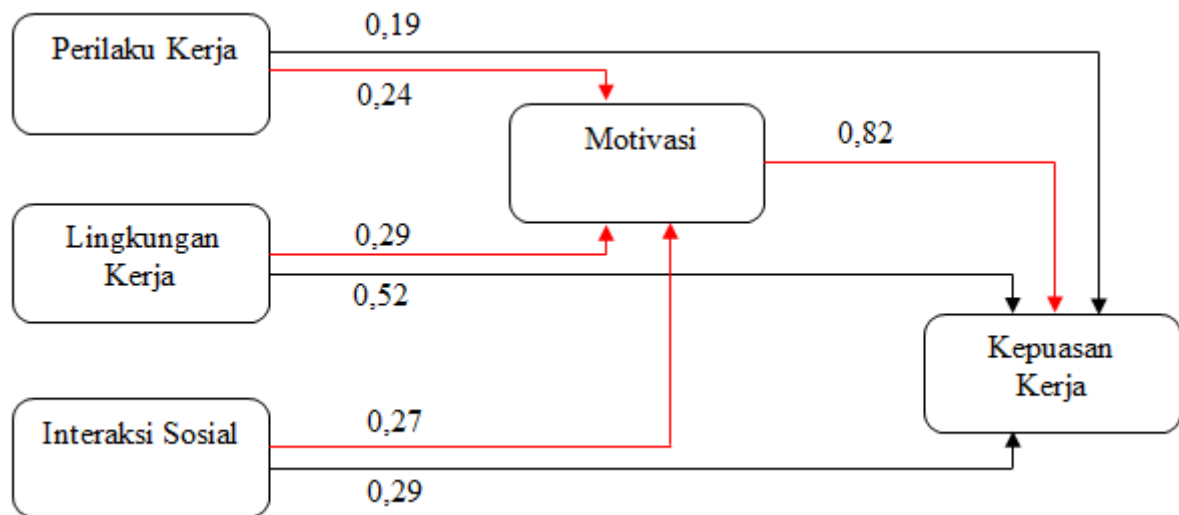
Berdasarkan analisa data dengan menggunakan program Lisrel diperoleh nilai estimasi dan signifikansi dari perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap kepuasan karyawan dengan motivasi sebagai variabel *intervening*. Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 3.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa motivasi dapat meningkatkan kepuasan kerja karyawan di RSUD Pandan Arang Boyolali. Hal ini bisa disebabkan karena motivasi adalah faktor penggerak dalam diri seseorang yang akan mengarahkan perilaku dan prestasi kerja orang tersebut, jika karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali berperilaku baik dan memiliki prestasi dalam pekerjaan maka otomatis akan menyebabkan kepuasan tersendiri atas pencapaiannya tersebut. Kepuasan ini dapat diperkuat jika RSUD Pandan Arang Boyolali memberikan *reward* bagi karyawan yang berprestasi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali dengan motivasi sebagai variabel mediasi adalah berpengaruh signifikan. Pengaruh ini ditunjukkan bahwa besaran pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial terhadap kepuasan kerja adalah masing-masing sebesar 19%, 52%, dan 29%, setelah diberi motivasi adalah meningkat secara signifikan yaitu menjadi sebesar 82%. Sehingga perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial yang sudah memiliki pengaruh terhadap kepuasan kerja, dapat lebih ditingkatkan lagi dengan memberikan motivasi-motivasi maupun

dorongan kepada karyawan RSUD Pandan Arang Boyolali agar kepuasan kerja dapat meningkat secara optimal yang akan berpengaruh terhadap kinerjanya sehingga

dapat mencapai tujuan RSUD Pandan Arang Boyolali maupun target kinerja yang telah ditetapkan oleh RSUD Pandan Arang Boyolali.



Gambar 3. Pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, interaksi sosial terhadap kepuasan karyawan dengan motivasi sebagai variabel intervening

Juliani (2007) menunjukkan bahwa terdapat hubungan positif antara variabel dependen dan independen melalui variabel intervening yaitu para perawat pelaksanaan di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Pirngadi Medan cukup puas dengan pekerjaan mereka. Budiyanto (2011) juga mendukung pernyataan ini, dimana motivasi kerja dapat menjadi variabel yang memediasi terhadap kepuasan kerja karyawan. Sehingga

penelitian ini sejalan dengan kedua pernyataan penelitian tersebut. Jika motivasi diberikan secara tepat, akan dapat mendorong karyawan untuk lebih meningkatkan kinerjanya sehingga dapat meraih tujuan pribadi maupun target institusi yang akan berpengaruh terhadap kepuasan diri karena pencapaian yang telah mereka raih.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- Perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial karyawan masing-masing mempunyai pengaruh yang signifikan dan positif terhadap kepuasan kerja staf di RSUD Pandan Arang Boyolali.
- Perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial karyawan masing-

masing mempunyai pengaruh yang signifikan dan positif terhadap motivasi kerja staf di RSUD Pandan Arang Boyolali.

- Pengaruh perilaku kerja, lingkungan kerja, dan interaksi sosial karyawan terhadap kepuasan kerja staf di RSUD Pandan Arang Boyolali dapat ditingkatkan melalui motivasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Budiyanto, 2011. The Effect of Job Motivation, Work Environment and Leadership on Organizational Citizenship Behavior, Job Satisfaction and Public Service Quality in Magetan, East Java, Indonesia. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 51.
- Chaplin. 1995. *Kamus Lengkap Psikologi* (terjemahan Kartini Kartono). Jakarta : PT. Grafindo Persada.
- Ferreira M.R., Proenca T., Proenca JF. 2011. An Empirical Analysis about Motivations among Hospital Volunteers. *FEP Working Papers N. 418*
- Franco L.M., Bennett S., Kanfer R., Stubblebine P. 2000. Health Worker Motivation in Jordan and Georgia: A Synthesis of Results. Harvard School of Public Health. *HRN-C-00-95-00024*.
- Gatot, D.B., Adisasmito, W. 2005. Hubungan Karakteristik Perawat, Isi Pekerjaan Dan Lingkungan Pekerjaan Terhadap Kepuasan Kerja Perawat Di Instalasi Rawat Inap Rsud Gunung Jati Cirebon. *Makara, Kesehatan, Vol. 9, No. 1*.
- Juliani. 2007. Pengaruh Motivasi Intrinsik terhadap Kinerja Perawat Pelaksana di Instalasi Rawat Inap RSU Dr. Pirngadi Medan. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Manullang, M. 1991. *Manajemen Personalia*. Cetakan Keenam. Jakarta: Penerbit Ghalia Indonesia.
- Mardiana. 2005. *Manajemen Produksi*. Jakarta: Penerbit Badan Penerbit IPWI.
- Rachman, D.A., Hamzah, A., Jafar, N. 2013 Pengaruh Perilaku Kelompok Terhadap Kepuasan Kerja Perawat Di Rsud Syekh Yusuf Kabupaten Gowa. [Prosiding]. Bagian Gizi. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasannudin.
- Ravari A., Bazargan M., Vanaki Z. & Mirzaei T. 2012. Job Satisfaction Among Iranian Hospital-Based Practicing Nurses: Examining The Influence Of Self-Expectation, Social Interaction And Organisational Situations. *Journal Of Nursing Management Volume 20, Issue 4. Page 522–533*.
- Suswati, E. 2012. Karakteristik Individu dan Karakteristik Organisasi Pengaruhnya terhadap Motivasi dan Kinerja Bidan Pada Rumah Sakit Umum Pemerintah Daerah Tapal Kuda Jawa Timur. *Prosiding Pekan Ilmiah Dosen FEB – UKSW*.



## FORMULASI MIKROKAPSUL GLIKUIDON MENGGUNAKAN PENYALUT ETIL SELULOSA DENGAN METODE EMULSIFIKASI PENGUAPAN PELARUT

**Febriyenti, Elfi Sahlan Ben, Tiara Prima**

Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND), Padang-Indonesia

Email: febriyenti74@yahoo.com

### ABSTRAK

Glikuidon merupakan obat diabetes yang memiliki waktu paruh yang pendek yakni 1,5 jam. Penelitian tentang mikrokapsulasi glikuidon telah dilakukan dengan penyalut etil selulosa menggunakan metode emulsifikasi penguapan pelarut dengan rasio obat-polimer 1:0,5, 1:1 dan 1:1,5 untuk dapat melepaskan obat secara perlahan. Evaluasi mikrokapsul yang dihasilkan meliputi spektroskopi IR, foto SEM, distribusi ukuran partikel, penetapan kandungan air, persentase loading obat, dan uji disolusi. Uji disolusi secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode dayung dalam medium dapar fosfat pH 7,4. Spektrum IR menunjukkan tidak adanya interaksi kimia glikuidon dan etil selulosa dalam pembuatan mikrokapsul. Hasil foto SEM menunjukkan mikrokapsul yang dihasilkan berbentuk bulat (sferis). Mikrokapsul glikuidon mempunyai distribusi ukuran partikel 55,5  $\mu\text{m}$  – 598,5  $\mu\text{m}$  yang dipengaruhi oleh konsentrasi etil selulosa yang digunakan. Persentase loading obat untuk formula 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah  $47,17 \pm 1,40$  ;  $36,37 \pm 2,01$  dan  $33,79 \pm 1,16\%$ . Persen efisiensi disolusi formula 1, 2 dan 3 berturut-turut adalah  $11,256 \pm 0,332$ ;  $10,739 \pm 0,414$  dan  $10,374 \pm 0,229\%$ . Pengujian statistik ANOVA satu arah hasil efisiensi disolusi tersebut menunjukkan terdapat perbedaan signifikan yang berarti peningkatan konsentrasi penyalut etil selulosa dapat meningkatkan penghambatan pelepasan glikuidon dari mikrokapsul. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan etil selulosa dalam formulasi mikrokapsul dapat memperlambat pelepasan glikuidon.

**Kata kunci:** Glikuidon, etil selulosa, mikrokapsul

### PENDAHULUAN

Menurut BPOM, pada Tahun 2000 jumlah penderita DM di Indonesia meningkat cukup signifikan dan diperkirakan pada tahun 2030 mencapai 21,3 juta orang, umumnya terjadi pada masyarakat yang gaya hidupnya tidak sehat. Diabetes merupakan penyakit kronik yang tidak menyebabkan kematian secara langsung, tetapi dapat berakibat fatal apabila pengelolaannya tidak tepat. (Wulandari, 2009).

Glikuidon adalah generasi kedua derivatif sulfonilurea (Anonim, 2009). Sulfonilurea merupakan golongan obat yang terbukti memiliki aktivitas klinik dalam pengobatan diabetes tipe 2 (Arayne, Sultana, & Mirza, 2006). Glikuidon mudah diserap di saluran pencernaan dan dalam plasma sebagian terikat pada protein plasma

terutama albumin (70-90%) dengan waktu paruh eliminasinya singkat, yaitu sekitar 1,5 jam. Glikuidone dimetabolisme di hati, metabolit tidak memiliki efek hipoglikemik yang signifikan, dan dieliminasi terutama dalam kotoran melalui empedu, hanya sekitar 5% dari dosis yang diekskresikan dalam urin (Anonim, 2009).

Obat ini diberikan secara oral dalam pengobatan diabetes mellitus tipe 2. Dosis awal biasanya 15 mg sehari diberikan sebagai dosis tunggal dan diminum 30 menit sebelum sarapan. Dosis dapat disesuaikan dengan pertambahan 15 mg dengan dosis biasa 45 sampai 60 mg sehari dalam 2 atau 3 kali sehari dalam dosis terbagi, dosis terbesar yang diambil pada pagi hari saat sarapan (Anonim, 2009).

Jadwal dan dosis glikuidon berpengaruh dalam mengontrol kadar glukosa darah untuk mencegah hipoglikemia, sehingga pengendalian kadar gula darah yang lebih baik akan tercapai bila glikuidon diberikan dua kali atau tiga kali sehari dan diminum sebelum makan (Ahad et al., 2011). Regimen yang boleh dikatakan sering ini menyebabkan ketidakpatuhan pasien dalam terapi sehingga angka kekambuhan meningkat. Selain itu penggunaan glikuidon dalam jangka panjang atau dosis yang besar dapat menyebabkan hipoglikemi. Oleh karena itu penggunaan glikuidon harus dipahami, agar ada kesesuaian dosis dengan indikasinya, tanpa menimbulkan hipoglikemia (Santosa, 2005).

Dengan berkembangnya ilmu farmasi khususnya teknologi formulasi sediaan maka dilakukan penelitian guna menghasilkan produk obat lepas lambat (*sustained release*). Salah satu teknologi yang bisa dilakukan adalah mikroenkapsulasi.

Mikroenkapsulasi adalah suatu proses penggunaan penyalutan pada suatu bahan aktif baik bersifat cairan maupun padatan yang relatif tipis pada partikel-partikel kecil zat padat atau cairan dengan ukuran partikel yang sangat kecil antara 1-5000  $\mu\text{m}$ . Kecilnya partikel menyebabkan bagian obat dapat tersebar secara luas melalui saluran cerna sehingga dapat menaikkan potensi penyerapan obat (Lachman, Lieberman, & Kanig, 1994).

Mikroenkapsulasi dapat meningkatkan penyerapan obat dan mengurangi efek samping seperti iritasi mukosa gastrointestinal (Nokhodchi & Farid, 2012). Proses mikroenkapsulasi akan menghasilkan mikrokapsul dari suatu bahan obat yang memiliki sifat stabilitas dan kelarutan lebih baik (Wang et al., 2006). Dalam mikroenkapsulasi, keadaan inti, stabilitas, konsentrasi bahan penyalut dan metode yang digunakan perlu diperhatikan.

Metoda emulsifikasi penguapan pelarut pada prinsipnya adalah melarutkan polimer di dalam pelarut yang mudah menguap, kemudian obat didispersikan atau dilarutkan dalam larutan polimer. Larutan polimer yang mengandung obat diemulsikan di dalam fase pendispersi, dan biarkan pelarut menguap kemudian mikrokapsul dikumpulkan dengan proses pencucian, filtrasi, dan pengeringan (Benita, 1991).

Etil selulosa adalah selulosa etil eter, merupakan polimer rantai panjang dari unit b- anhidro- glukosa yang bergabung melalui ikatan asetal. Polimer ini bersifat hidrofobik dan larut dalam banyak pelarut organik (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

Oleh karena itu, dilakukan mikroenkapsulasi pada glikuidon dengan Etil selulosa sebagai penyalut menggunakan metoda emulsifikasi penguapan pelarut sehingga menghasilkan sediaan lepas lambat.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Homogenizer (*IKA® RW Digital*), *Fourier Transform Infrared* (FT-IR) (*Thermo Scientific NICOLET IS1, Germany*), spektrofotometer UV-Vis (*UV-1700 PharmaSpec, Japan*), timbangan analitik (*Denver Instrumen SI-234, America*), alat uji disolusi (*Hanson Research SR-8 Pls DissolutionTest Station, Italian*), *scanning electron microscope* (*Phenom Pro-X, Netherlands*), mikroskop okulomikrometer (*Griffin Carton, Germany*), alat pengukur kadar lembab (*Denver Instrumen IR-35,*

*America*), sonikator (*Branson 1510, America*), spatel, kertas saring, corong, oven, dan alat-alat gelas.

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah glikuidone (Dankos), etil selulosa (Hercules), parafin cair (*bratachem*), tween 80 (*bratachem*), n-heksan, metanol, aseton (Dwi Peraga), aquadest, NaOH (*bratachem*), Kalium Fosfat (*bratachem*) dan bahan lain yang digunakan dalam analisa.

### Pembuatan Mikrokapsul Glikuidon

Mikrokapsul Glikuidon dibuat dengan 3 formula dengan perbandingan glikuidon dan etil selulosa 1:0,5; 1:1; 1:1,5.

Tabel 1. Formula Mikrokapsul

Bahan	Formula		
	F1	F2	F3
Glikuidone (g)	2	2	2
Etil Selulosa (g)	1	2	3
Aseton (ml)	30	30	30
Parafin liquid (ml)	60	60	60
Tween 80 (ml)	1,2	1,2	1,2
N-heksan(ml)	50	50	50

#### Pembuatan Mikrokapsul

Etil selulosa dilarutkan dengan pelarut aseton di dalam beaker glass. Glikuidon dilarutkan ke dalam larutan etil selulosa (M<sub>1</sub>). Di dalam beaker glass lain masukkan parafin cair dan tween 80 (M<sub>2</sub>). M<sub>1</sub> ditambahkan tetes demi tetes dan diemulsikan dalam M<sub>2</sub>. Emulsi diaduk dalam homogenizer dengan kecepatan 700 rpm pada temperatur ruang selama 6 jam. Mikrokapsul dikumpulkan dengan cara enap tuang kemudian dicuci dengan n-heksan sampai semua parafin tercuci, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama 30 menit.

#### Evaluasi Mikrokapsul

- Analisis spektroskopi IR (P.Weiss et al., 2007)  
Mikrokapsul glikuidon dalam bentuk serbuk, diukur serapan inframerahnya dengan menggunakan alat *Fourier Transform Infrared* (FT-IR). Mikrokapsul glikuidon diletakkan di atas *transparent disk* kemudian dilakukan pembacaan (scan) oleh alat FT-IR.
- Berat mikroenkapsulasi yang diperoleh  
Berat mikrokapsul yang diperoleh ditimbang dengan timbangan analitik.
- Distribusi ukuran partikel (Halim, 1995; Voigt, 1994)  
Mikroskop sebelum digunakan dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan mikrometer pentas. Lalu sejumlah mikrokapsul didispersikan

dalam parafin cair dan ditetaskan pada kaca objek. Kemudian letakkan di bawah mikroskop, amati ukuran partikel serbuk dan hitung jumlah partikelnya (300 partikel).

- Penetapan kandungan air (Rajesh, Narayanan, & chacko, 2011)  
Mikrokapsul diukur kadar airnya menggunakan alat pengukur kadar lembab (*moisture balance*).
- Penetapan kandungan glikuidon dalam mikrokapsul  
Mikrokapsul glikuidon dari masing-masing formula ditimbang 50 mg. Lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas, kemudian dikocok dan disonikasi selama 1 jam. Setelah itu dipipet 5 mL filtrat ke dalam labu ukur 25 mL, lalu diencerkan dengan metanol sampai tanda batas. Lakukan pengenceran hingga 3 kali dan ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum glikuidon dengan spektrofotometer UV. Konsentrasi zat aktif dapat ditentukan dengan menggunakan kurva kalibrasi. Masing-masing formula dilakukan pengulangan 3 kali.
- Penentuan Loading Obat, Efisiensi Enkapsulasi, dan Hasil Mikrokapsul (Khamanga, et al., 2009)  
Dari penentuan kandungan obat dalam mikrokapsul yang diperoleh dapat dihitung persentase zat aktif yang tersalut dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Loading} = \frac{\text{berat zat aktif glikuidon}}{\text{berat mikrokapsul}} \times 100 \%$$

Persentase *microcapsule yield* dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Yield} = \frac{M}{M_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

M = Berat mikrokapsul

M<sub>0</sub> = Berat awal dari glikuidon + berat awal etil selulosa

$$\text{Entrapment efficiency} = \frac{\text{Jumlah glikuidon yang terukur}}{\text{Jumlah glikuidon secara teoritis}} \times 100 \%$$

Setiap pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

- g. Scanning Electron Microscopy (Khamanga, Parfitt, Tsitsi Nyamuzhiwa, Haidula, & Walker<sup>1</sup>, 2009; Rajesh, et al., 2011)

Sampel diletakkan pada sampel holder aluminium dengan ketebalan 10 nm. Sampel kemudian diamati berbagai perbesaran alat SEM (*Phenom pro-X*, Netherlands). Voltase diatur pada 5 kV dan arus 12 mA.

- h. Profil disolusi (Ahad et al., 2010)

Mikrokapsul glikuidon didisolusi dengan metoda dayung pada kecepatan 50 rpm. Labu diisi dengan medium disolusi dapar fosfat pH 7,4 sebanyak 900 mL pada suhu  $37 \pm 0,5$  °C. Setelah suhu tersebut

tercapai, dimasukan mikrokapsul yang setara dengan 30 mg mikrokapsul kedalam wadah disolusi dan dimasukan kedalam medium disolusi. Pada menit ke 10, 20, 30, 45, 60, 120, 240, dan 360 dipipet larutan sebanyak 5 mL. Pada setiap pemipetan, larutan di dalam labu diganti dengan medium disolusi dengan volume dan suhu yang sama. Lalu dilakukan pengukuran absorban dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang serapan maksimum glikuidon. Kadar glikuidon pada masing-masing waktu pemipetan dapat ditentukan dengan bantuan kurva kalibrasi. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali dengan mengambil sampel yang sama pada tiap formula.

## HASIL DAN DISKUSI

Formulasi mikrokapsul glikuidon di buat dalam tiga formula dengan menggunakan penyalut etil selulosa. Formulasi mikrokapsul ini dibuat dengan menggunakan alat homogenizer dalam 3 formula. Perbandingan glikuidon dengan penyalut etil selulosa yang digunakan adalah 1:0,5; 1:1; dan 1:1,5 dan metoda pembuatan mikrokapsul ini adalah metoda emulsifikasi penguapan pelarut. Dalam pembuatan formula ini digunakan aseton sebagai pelarut etil selulosa, paraffin cair sebagai fasa pendispersi, tween 80 sebagai penstabil dalam formula sekaligus berfungsi sebagai emulgator yang berguna untuk membantu proses mikroenkapsulasi dengan menurunkan tegangan antar muka, dan n-heksan untuk pencucian mikrokapsul dan memadatkan mikrokapsul.

Pembuatan formula diawali dengan penentuan kondisi optimum proses mikroenkapsulasi glikuidon yang meliputi penentuan kecepatan pengadukan, konsentrasi emulgator dan perbandingan

pelarut dengan fase pembawa. Faktor-faktor tersebut mempengaruhi proses pembentukan mikrokapsul (Lachman, *et al*, 1989).

Kecepatan pengadukan akan mempengaruhi bentuk dan ukuran mikrokapsul. Pada pengadukan yang lambat akan menghasilkan mikrokapsul dengan ukuran partikel yang lebih besar karena selama proses pengadukan terbentuk tetesan-tetesan dengan ukuran yang besar sehingga ukuran mikrokapsul menjadi besar. Sebaliknya pada pengadukan yang lebih tinggi dapat menyebabkan terbentuknya mikrokapsul dengan ukuran yang lebih kecil. Kesempurnaan mikrokapsul juga ditentukan dari lamanya proses pengadukan (Sutriyo, Djajadisatra, & Novitasari, 2004).

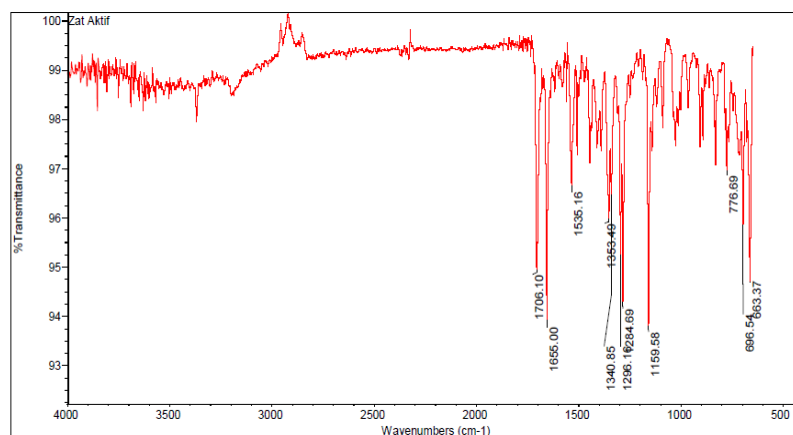
Kondisi optimum yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan kecepatan pengadukan 700 rpm selama 6 jam dengan perbandingan pelarut dengan fase pembawa adalah 1:0,5. Selanjutnya kondisi optimum yang telah

diperoleh tersebut kemudian digunakan pada proses pembuatan mikrokapsul glikuidon.

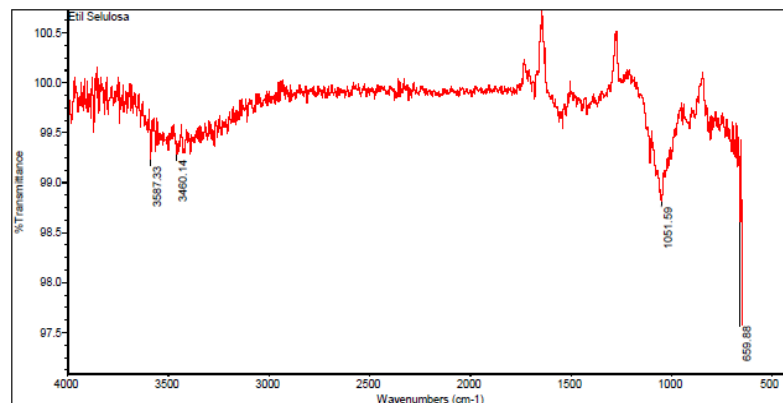
Pada proses mikroenkapsulasi mula-mula etil selulosa dilarutkan dalam pelarut aseton lalu setelah homogen larutkan glikuidon dalam larutan etil selulosa tersebut. Kemudian campuran fase pembawa (parafin cair), tween-80 di campur dengan homogenizer dan ditetaskan larutan polimer-glikuidon yang akan terbentuk emulsi, berupa butiran-butiran halus. Pengadukan terus dilanjutkan hingga seluruh aseton

menguap yaitu selama 6 jam sehingga didapatkan mikrokapsul yang keras. Pemisahan mikrokapsul dari fase pembawa (parafin cair) dilakukan dengan cara enap tuang. Mikrokapsul selanjutnya dicuci dengan n-heksan guna menghilangkan sisa parafin yang menempel pada dinding mikrokapsul dan sekaligus membantu pemadatan mikrokapsul.

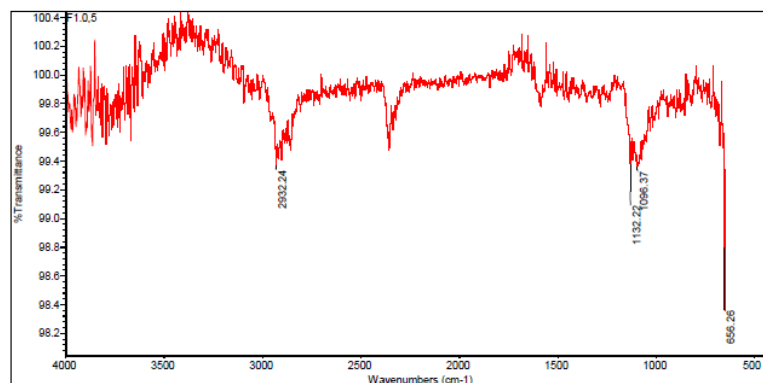
Hasil analisis spektrum inframerah glikuidon, etil selulosa dan mikrokapsul glikuidon dapat dilihat pada Gambar 1 – 5



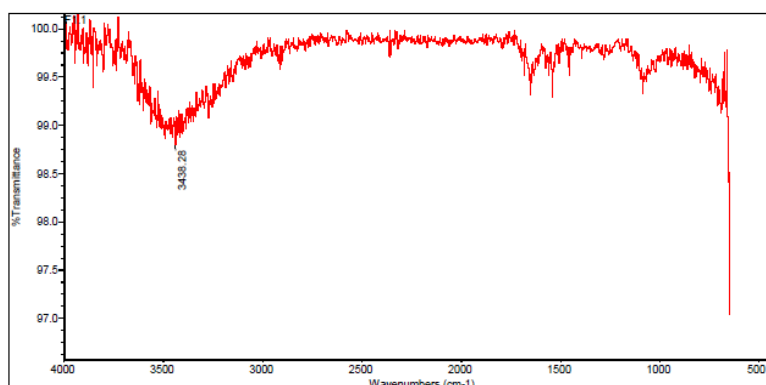
Gambar 1. Spektrum Fourier Transform Infrared bahan baku glikuidon



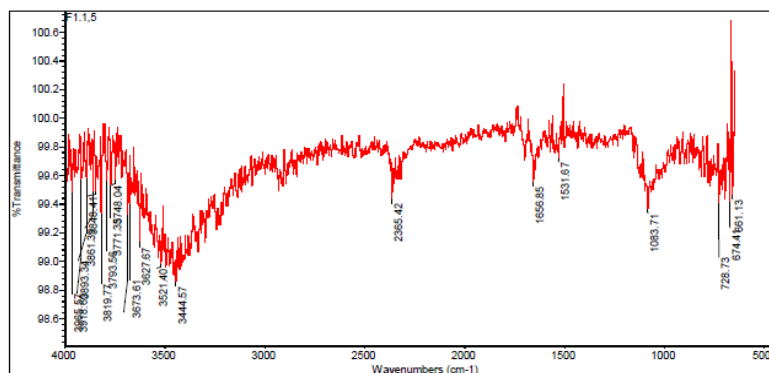
Gambar 2. Spektrum Fourier Transform Infrared bahan baku Etil Selulosa



Gambar 3. Spektrum Fourier Transform Infrared mikroapsul glikuidon formula 1



Gambar 4. Spektrum Fourier Transform Infrared mikroapsul glikuidon formula 2



Gambar 5. Spektrum Fourier Transform Infrared mikroapsul glikuidon formula 3

Hasil analisa spektroskopi dengan *Fourier Transform InfraRed* (FTIR) glikuidon (Gambar 1) memperlihatkan adanya gugus C=O pada daerah bilangan gelombang  $1706,10\text{ cm}^{-1}$  dan  $1655\text{ cm}^{-1}$ , gugus C=C aromatik pada gelombang  $1536,16\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-H muncul pada daerah bilangan gelombang  $1340,85\text{ cm}^{-1}$  dan  $1353,49\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-N muncul pada daerah bilangan gelombang  $1295\text{ cm}^{-1}$ , gugus S=O muncul pada daerah  $1285\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-O-C

muncul pada daerah  $1159,58\text{ cm}^{-1}$  dan gugus C=C-H muncul pada daerah  $776,69\text{ cm}^{-1}$ ,  $696,54\text{ cm}^{-1}$  dan  $663,37\text{ cm}^{-1}$ . Daerah gugus yang muncul sesuai dengan literatur dimana gugus C=O muncul pada bilangan gelombang  $1900-1650\text{ cm}^{-1}$ , gugus C=C aromatik muncul pada daerah  $1675-1500\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-H muncul pada daerah  $1475-1300\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-N muncul pada daerah bilangan  $1360-1250\text{ cm}^{-1}$ , gugus S=O muncul pada daerah  $1300-1150\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-O-C

muncul pada daerah  $1250-1000\text{ cm}^{-1}$  (Arayne, et al., 2006; Dachriyanus, 2004).

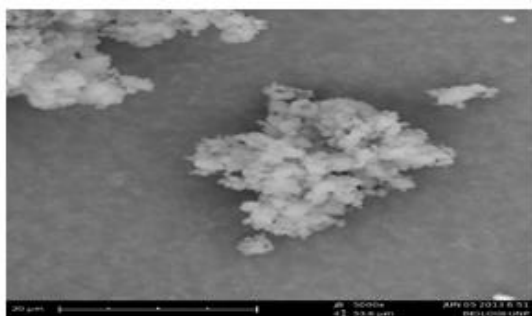
Hasil analisa spektroskopi dengan *Fourier Transform InfraRed* (FTIR) etil selulosa (Gambar 2.) memperlihatkan adanya gugus O-H pada daerah bilangan gelombang  $3587,33\text{ cm}^{-1}$  dan  $3460,19\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-H pada gelombang  $1051,59\text{ cm}^{-1}$  dan gugus C=C-H muncul pada daerah bilangan gelombang  $659,88\text{ cm}^{-1}$ . Daerah gugus yang muncul sesuai dengan literatur dimana gugus O-H muncul pada bilangan gelombang  $3750-3000\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-H pada daerah  $1000-1475\text{ cm}^{-1}$  dan gugus C=C-H pada daerah  $1000-650\text{ cm}^{-1}$  (Dachriyanus, 2004).

Dari hasil spektroskopi FTIR mikrokapsul glikuidon (Gambar 3-5) dapat dilihat bahwa lembah-lembah yang terbentuk menunjukkan gugus-gugus yang dimiliki oleh glikuidon sebagai zat aktif dan etil selulosa sebagai penyalut. Akan tetapi ada beberapa puncak yang hilang dari mikrokapsul glikuidon terutama terlihat jelas pada formula 2, hal ini dapat disebabkan oleh jumlah glikuidon yang sedikit dibandingkan dengan polimer yang digunakan sehingga adanya kemungkinan tidak terdeteksi oleh alat yang digunakan. Kurangnya ketajaman pengukuran dari alat spektroskopi IR terhadap jumlah glikuidon yang kecil juga

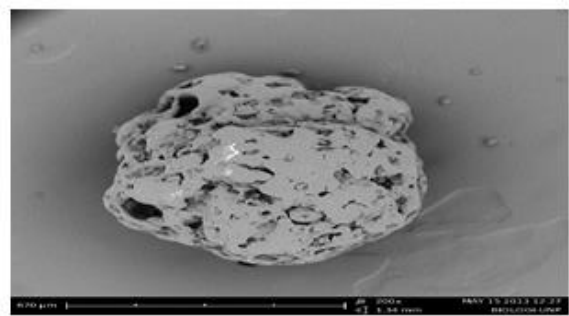
dapat menyebabkan beberapa puncak tidak muncul. Selain itu pada mikrokapsul glikuidon juga muncul puncak baru pada bilangan gelombang  $3750-3000\text{ cm}^{-1}$  yaitu gugus O-H. Pada formula 2 hanya terdapat satu puncak yaitu  $3438,28\text{ cm}^{-1}$  sedangkan pada formula 3 muncul beberapa puncak tetapi masih berada dalam bilangan gelombang  $3750-3000\text{ cm}^{-1}$ . Gugus ini muncul karena masih ada kandungan air yang terperangkap di dalam mikrokapsul.

Dari hasil analisis spektroskopi inframerah mikrokapsul glikuidon menunjukkan bahwa tidak terjadi interaksi secara kimia antara glikuidon dengan etil selulosa. Hal ini dilihat dari tidak adanya perubahan yang bermakna dari daerah puncak dan bilangan gelombang mikrokapsul dengan spectrum IR glikuidon.

Pada evaluasi mikroskopis mikrokapsul dilakukan dengan foto SEM (*Scanning Electron Microscope*) glikuidon, etil selulosa dan mikrokapsul glikuidon. Gambar glikuidon ditampilkan pada perbesaran 5000 kali sedangkan etil selulosa pada perbesaran 200 kali. Hasil SEM mikrokapsul glikuidon dilakukan pada perbesaran 150 kali untuk masing-masing formula.



(a)



(b)

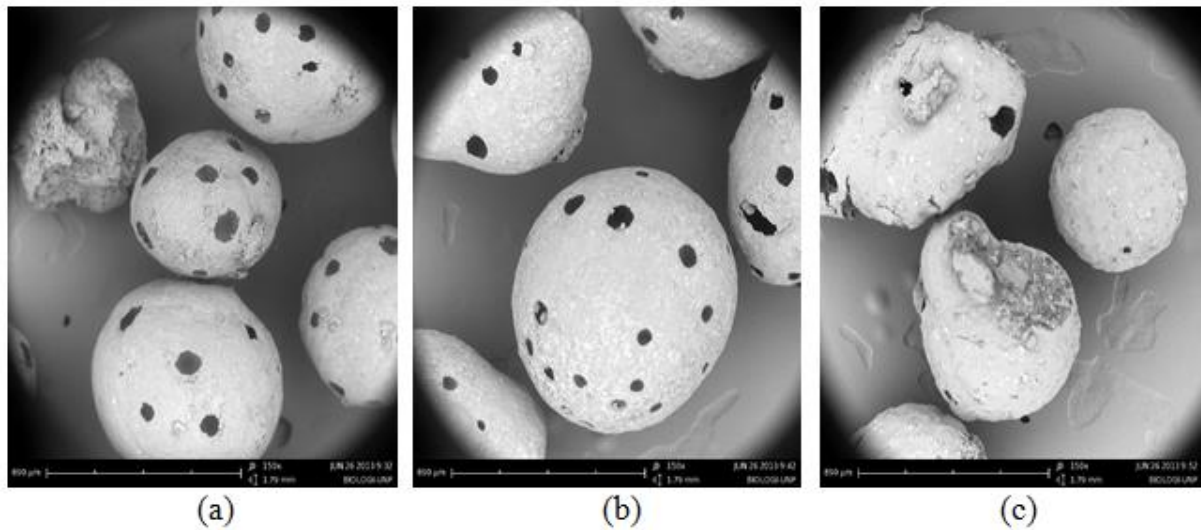
Gambar 6. Hasil Scanning Electron Microscope (SEM) permukaan glikuidon dengan perbesaran 5000 kali (a) permukaan etil selulosa dengan perbesaran 200 kali (b)

Pada ketiga formula mikrokapsul glikuidon yang dihasilkan terlihat mikrokapsul yang terbentuk berbentuk bulat (sferis). Selain itu permukaan dari ketiga formula juga terlihat tidak rata dan lubang-lubang pada masing-masing permukaan

mikrokapsul. Larutan yang tidak homogen dapat menyebabkan terperangkapnya gelembung-gelembung udara, hal ini lah yang menyebabkan permukaan mikrokapsul akan tampak berlubang (Herdini, 2008). Ketidakrataan permukaan mikrokapsul yang

terbentuk disebabkan karena adanya sisa etil selulosa yang masih menempel pada permukaan mikrokapsul. Hal ini terjadi

karena proses pencucian yang kurang bersih yang menyebabkan masih tertinggalnya penyalut yang tidak digunakan.



Gambar 7. Hasil Scanning Electron Microscope (SEM) permukaan mikrokapsul formula 1 (a), formula 2 (b) dan formula 3 (c) dengan perbesaran 150 kali

Berat mikrokapsul glikuidon yang didapat pada formula 1, formula 2 dan formula 3 masing-masing adalah 3,7940 gram, 4,5988 gram dan 4,8695 gram. Berat yang didapat bertambah dari jumlah berat dalam formula untuk formula 1 dan 2 sedangkan untuk formula 3 berat yang didapatkan berkurang dari jumlah berat yang seharusnya diperoleh. Berat seharusnya yang diperoleh dari masing-masing formula yaitu 3 gram, 4 gram dan 5 gram. Dari mikrokapsul yang terbentuk, hasil perolehan kembali proses mikroenkapsulasi yang didapat untuk formula 1, formula 2, dan formula 3 berturut adalah 114,97; 126,47; dan 87,56%. Data dari formula 1 dan 2 menunjukkan bahwa perolehan kembalinya melebihi 100%. Hal ini disebabkan karena adanya bahan lain (parafin cair) yang masih terjebak di dalam pori-pori dari mikrokapsul. Sedangkan pada formula 3 menunjukkan perolehan kembalinya kurang dari 100%. Hal ini mungkin disebabkan karena belum sempurnanya proses emulsifikasi yang terjadi sehingga ada zat yang tidak tersalut dan ikut terbuang bersama parafin cair (Dehgan, Aboofazeli, M. Avadi, & Khaksar, 2010), selain itu juga karena adanya zat yang

mungkin menempel pada batang pengaduk yang digunakan.

Hasil penetapan kandungan zat aktif dalam mikrokapsul diperoleh persen efisiensi enkapsulasi mikrokapsul formula 1, formula 2, dan formula 3 berturut adalah  $89,47 \pm 2,66$ ;  $83,46 \pm 4,62$ ; dan  $82,18 \pm 2,81$ . Data tersebut menunjukkan glikuidon yang terkapsulasi tidak mencapai 100 %. Hal ini dikarenakan adanya glikuidon yang tidak ikut tersalut sehingga pada saat proses enap tuang, glikuidon ikut terbuang bersama parafin cair (Dehgan, et al., 2010). Selain itu, adanya glikuidon yang menempel pada dinding mikrokapsul memperbesar kehilangan zat aktif karena ikut terbawa bersama n-heksan pada proses pencucian.

Penetapan kandungan air dilakukan menggunakan alat pengukur kadar lembab, penetapan ini dilakukan untuk mengetahui kandungan air mikrokapsul glikuidon yang dibuat sehingga jika dilanjutkan dengan proses pembuatan sediaan tertentu dapat disesuaikan dengan ketetapanannya masing-masing. Kadar air yang didapat pada formula 1, formula 2 dan formula 3 masing-masing adalah 2,6%; 3,6% dan 2,6%. Pada penetapan kadar air seharusnya semakin



besar penyalut etil selulosa yang digunakan maka semakin besar pula kadar air dalam mikrokapsul. Hal ini disebabkan karena kadar air etil selulosa lebih besar dibandingkan dengan kadar air glikuidon.

Tetapi pada formula 3 terjadi penurunan kadar air, ini terjadi disebabkan proses pengeringan yang lebih lama dibandingkan pada formula 1 dan formula 2.

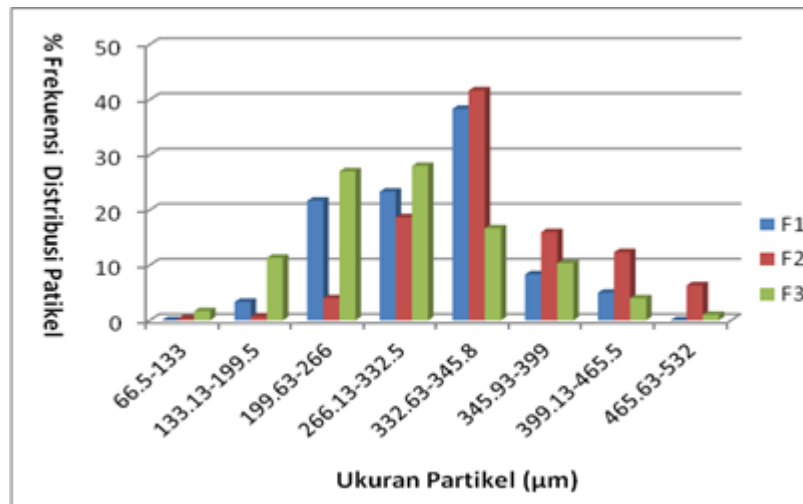
Tabel 2. Hasil Evaluasi Mikrokapsul

Mikrokapsul	Berat mikrokapsul yang dihasilkan (gram)	Perolehan kembali proses mikroenkapsulasi (%)	% Loading (%)	Efisiensi Enkapsulasi (%)	Kandungan air (%)
F1	3,7940	114,97	$47,17 \pm 1,40$	$89,47 \pm 2,66$	2,6
F2	4,5988	126,47	$36,37 \pm 2,01$	$83,46 \pm 4,62$	3,6
F3	4,8645	97,29	$33,79 \pm 1,16$	$82,18 \pm 2,81$	2,6

Keterangan : F1 = Glikuidon 2 gram, Etil Selulosa 1 gram  
 F2 = Glikuidon 2 gram, Etil Selulosa 2 gram  
 F3 = Glikuidon 2 gram, Etil Selulosa 3 gram

Distribusi ukuran partikel mikrokapsul dilakukan menggunakan mikroskop okuler dilengkapi dengan mikrometer yang telah dikalibrasi lalu mikrokapsul disuspensikan dalam parafin cair. Mikrokapsul yang diamati berjumlah 300 partikel pada masing-masing formula dengan perbesaran 4. Hasil pemeriksaan distribusi ukuran partikel secara umum memperlihatkan bahwa ukuran partikel mikrokapsul secara keseluruhan terletak antara 55,5  $\mu\text{m}$ -598,5  $\mu\text{m}$ . Rentang ukuran partikel terbanyak pada formula 1, formula 2 berada pada rentang yang sama yakni pada rentang 332,63-399  $\mu\text{m}$  dengan frekuensi formula 1 dan formula 2 secara berturut-turut sebesar 36,67%, dan 41,66% dan formula 3 memiliki distribusi ukuran partikel terbesar pada ukuran 266,13-332,5  $\mu\text{m}$  sebanyak 28 %. Dari ketiga formula, ukuran partikel untuk masing-masing formula tersebar secara merata. Distribusi ukuran partikel mikrokapsul dipengaruhi oleh jumlah etil selulosa yang digunakan sebagai pembentuk

dinding mikrokapsul (Sutriyo, et al., 2004). Semakin besar jumlah etil selulosa yang digunakan maka terjadi peningkatan ketebalan dinding mikrokapsul yang terbentuk sehingga semakin besar pula ukuran mikrokapsul yang dihasilkan (Halder & Sa, 2006). Pada formula 3 terjadi penurunan ukuran partikel dibandingkan dengan formula 2, padahal menurut literatur yang ada semakin banyak jumlah etil selulosa yang digunakan maka semakin besar ukuran mikrokapsul yang terbentuk. Hal ini terjadi karena semakin banyak jumlah etil selulosa yang digunakan pada setiap formula maka terjadi peningkatan kekentalan cairan yang akan dipipet ke dalam fasa pembawa (parfin cair) sehingga semakin sulit dalam proses pemipetan dan mikrokapsul yang terbentuk lebih kecil dibandingkan pada formula 2. Secara keseluruhan ketiga formula yang didapatkan telah memenuhi persyaratan untuk ukuran partikel mikrokapsul dengan metoda emulsifikasi penguapan pelarut yaitu antara 1-5000  $\mu\text{m}$  (Lachman, et al., 1994).



Gambar 8. Grafik distribusi ukuran partikel mikrokapsul glikuidon

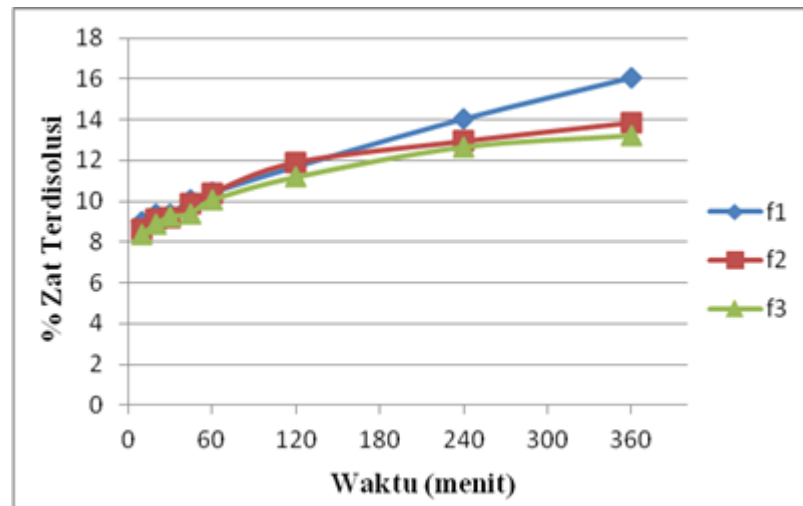
Disolusi mikrokapsul glikuidon menggunakan metoda dayung dengan kecepatan 50 rpm dan medium disolusi dapar fosfat 7,4 sebanyak 900 mL. Metoda ini dipilih sesuai dengan buku resmi *British Pharmacopoeia 2012*. Pengambilan cuplikan dilakukan sebanyak 8 kali yaitu pada menit ke 10, 20, 30, 45, 60, 120, 240, dan 360.

Intepretasi terhadap data disolusi dapat dilakukan dengan mengamati profil disolusi mikrokapsul glikuidon dalam medium dapar fosfat pH 7,4 pada masing-masing formula. Profil disolusi dibuat dengan memplotkan persen zat glikuidon yang terdisolusi dengan waktu dalam menit. Profil disolusi tersebut memperlihatkan adanya perlambatan pelepasan glikuidon dalam mikrokapsul tetapi pada formula 2 dan 3 menunjukkan perbedaan pelepasan yang nilainya saling berdekatan. Dari ketiga formula mikrokapsul glikuidon diketahui bahwa pada formula 3 pelepasannya lebih rendah dari pada formula 1 dan 2. Pelepasan glikuidon pada waktu ke 360 menit dari mikrokapsul pada formula 1, formula 2, dan formula 3 berturut adalah  $16,072 \pm 0,332$ ,  $13,839 \pm 0,414$ ,  $13,218 \pm 0,008\%$ . Pada data efisiensi disolusi, diperoleh efisiensi disolusi formula 1,2, dan 3 secara berturut-turut yaitu:  $11,256 \pm 0,332$ ,  $10,739 \pm 0,414$ ,

$10,374 \pm 0,229\%$ . Dari data efisiensi disolusi (ED) yang diperoleh dari perhitungan daerah di bawah kurva (AUC) tersebut, dapat dilihat bahwa ED formula 1 lebih tinggi dari formula 2 dan 3.

Dari data tersebut menunjukkan bahwa semakin besar jumlah etil selulosa maka pelepasan glikuidon dalam mikrokapsul juga akan diperlambat karena semakin tebalnya dinding mikrokapsul (Sutriyo, et al., 2004). Meskipun lamanya pelepasan dari ketiga formula tidak terlalu jauh. Hal ini mungkin saja disebabkan karena perbedaan jumlah polimer yang digunakan tidak terlalu jauh dari masing-masing formula. Dari ketiga formula tersebut terlihat bahwa pelepasan dari masing-masing formula sangat kecil pada menit ke 360 tidak mencapai 50% kadarnya yang terdisolusi.

Dari data yang diperoleh, secara umum dapat dikatakan bahwa dengan semakin meningkatnya jumlah polimer maka semakin lambat pelepasan zat aktif yang terenkapsulasi. Hal ini disebabkan karena etil selulosa bersifat hidrofobik sehingga tidak larut dalam air dan sulit mengembang, akibatnya penetrasi cairan untuk berdifusi lebih lambat dan kecil sehingga waktu yang dibutuhkan untuk melepaskan sejumlah obat menjadi lebih lama (Sutriyo, et al., 2004).



Gambar 9. Profil disolusi mikro kapsul glikuidon dalam medium dapat fosfat

Keterangan :

- % rata-rata formula 1 = Glikuidon 2g, Etil selulosa 1g
- % rata-rata formula 2 = Glikuidon 2g, Etil selulosa 2g
- % rata-rata formula 3 = Glikuidon 2g, Etil selulosa 3g

Tabel 3. Data hasil perhitungan efisiensi disolusi mikro kapsul glikuidon

Pengulangan	Efisiensi Disolusi (%)		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
1	11,189	10,358	10,319
2	11,616	10,680	10,177
3	10,962	11,180	10,626
Rata-rata Efisiensi Disolusi	11,256 <sup>b</sup> ± 0,332	10,739 <sup>a</sup> ± 0,414	10,374 <sup>a</sup> ± 0,229

Analisa statistik anova satu arah antara perbandingan formula mikro kapsul glikuidon dengan persen efisiensi disolusi menunjukan adanya pengaruh yang nyata dari peningkatan konsentrasi penyalut etil selulosa dengan penghambatan pelepasan

glikuidon. Dari data pengujian tersebut dapat membuktikan bahwa semakin besar jumlah penyalut yang digunakan maka semakin besar penghambatan pelepasan glikuidon dari mikro kapsul.

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan etil selulosa dalam formulasi mikroapsul dapat memperlambat pelepasan glikuidon
2. Semakin tinggi jumlah etil selulosa yang digunakan maka semakin lambat pelepasan zat aktif di dalamnya dengan pelepasan zat aktif pada T<sub>360</sub> formula 1, formula 2 dan formula 3 berturut-turut meskipun pelepasan obat menjadi sangat kecil.

adalah  $16,072 \pm 0,332\%$ ,  $13,839 \pm 0,414\%$  dan  $13,218 \pm 0,008\%$  dalam perbandingan 1:0,5, 1:1 dan 1:1,5.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahad, H. A., Kumar, C. S., Reddy, K. K., Kumar, A., Sekhar, C., Sushma, K., et al. (2010). Preparation and Evaluation of Sustained Release Matrix Tablets of Gliquidone Based on Combination of Natural and Synthetic Polymers. *Journal of Advanced Pharmaceutical Research*, 1(2), 108-114.
- Ahad, H. A., R., S., Reddy, K. K., Gupta, R., Mahesh, K., Kumar, R., et al. (2011). Fabrication and Evaluation of Gliquidone Azadirachta indica Fruit Mucilage and Poly Vinyl Pyrrolidone Sustained Release Matrix Tablets. *Scholars Research Library*, vol.3(issue 1), 38-44.
- Anonim. (2009). *Martindal the complete drug reference* (36 ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Arayne, M. S., Sultana, N., & Mirza, A. Z. (2006). Spectrophotometric Method for Quantitative Determination of Gliquidone in Bulk Drug, Pharmaceutical Formulation and Human Serum. *Pak. J. Pharm. Sci*, Vol.19(3), 182-185.
- Benita, S. (1991). *Microencapsulation Methods and Industrial Application*. New york Marcel Dekker Inc.
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: Andalas University Press.
- Dehgan, S., Aboofazeli, R., M. Avadi, M., & Khaksar, R. (2010). Formulation optimization of nifedipine containing microspheres using factorial design. *African Journal of Pharmacy and Technology*, 4(6), 346-354.
- Halder, A., & Sa, a. B. (2006). Preparation and In Vitro Evaluation of Polystyrene-Coated Diltiazem-Resin Complex by Oil-in-Water Emulsion Solvent Evaporation Method. *AAPS PharmSciTech*, 7(2).
- Halim, A. (1995). *Teknologi Partikel*. Padang: Universitas Andalas.
- Herdini. (2008). *Mikroenkapsulasi Ekstrak Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb) Tersulut Gel Kitosan dan Alginat*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Khamanga, S. M., Parfitt, N., Tsitsi Nyamuzhiwa, Haidula, H., & Walker1, R. B. (2009). The Evaluation of Eudragit Microcapsules Manufactured by Solvent Evaporation Using USP Apparatus 1. *Dissolution Technologies*.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., & Kanig, J. L. (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Nokhodchi, A., & Farid, D. (2012). Microencapsulation of Paracetamol by Various Emulsion Techniques Using Cellulose Acetate Phthalate. *Pharmaceutical Technology*, 54-60.
- P.Weiss, Lapkowski, M., LeGeros, R. Z., Boulter, J. M., Jean, A., & Daculsi, a. G. (2007). FTIR Spectroscopic Study of an Organic/mineral Composite for Bone and Dental Substitute Materials. *J Mater Sci Mater Med*, 8(10), 621-629.
- Rajesh, Narayananan, & chacko, A. (2011). Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Microcapsules of Aceclofenac Using HPMC and SCMC as Mucoadhesive Polymers. *Journal of Pharmacy Research*, vol.4(issue 12), 4558-4561.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (Edition 6 ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Santosa, H. S. d. M. H. (2005). Uji Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia Polyantha

- pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran Hewan*, 21(2).
- Sutriyo, Djajadisastra, J., & Novitasari, A. (2004). Mikroenkapsulasi Propanolol Hidroklorida dengan Penyalut Etil Selulosa Menggunakan Metoda Penguapan Pelarut. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, 93 - 101.
- Voigt, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (Edisi 5 ed.). Yogyakarta: UGM Press.
- Wang, W., Liu, X., Xie, Y., Zhang, H. a., Yu, W., Xiong, Y., et al. (2006). Microencapsulation Using Natural Polysaccharides For Drug Delivery and Cell Implantation. *Journal of Material Chemistry*, 3252–3267.
- Wulandari, A. (2009). *Evaluasi Pemilihan Obat Antidiabetes pada Penderita Diabetes Mellitus di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Umum Daerah Kota Salatiga Tahun 2008*. Universitas Muhammadiyah Surakarta, SURAKARTA.

## **PENGEMBANGAN SEDIAAN EKSFOLIAN DAN UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus Sabdariffa* L.) DALAM UPAYA MELAWAN RADIKAL BEBAS**

**Endang Lukitaningsih, Agus Juniarka, Sri Noegrohati**

Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta

lukitaningsih\_end@yahoo.com

### **ABSTRAK**

Perkembangan dunia kosmetika saat ini semakin maju, seiring dengan perkembangan pola hidup agar lebih atraktif dan sehat. Dengan memanfaatkan bahan tanaman, banyak produk kosmetika telah dibuat dan dinyatakan aman. Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) telah diketahui memiliki kandungan utama antosianin, sehingga berpeluang sekali digunakan sebagai bahan baku kosmetika sediaan antioksidan dan eksfolian.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan teknik ekstraksi agar dapat menyari antosianin semaksimal mungkin. Ekstrak yang diperoleh kemudian diteliti kandungan antosianinnya dan kemampuan antioksidannya. Selanjutnya dibuat sediaan kosmetika yang sesuai agar diperoleh sediaan kosmetika yang masih memiliki sifat antioksidan.

Dari penelitian diperoleh hasil bahwa bunga rosella memiliki kemampuan menangkap radikal DPPH yang cukup baik dengan harga IC<sub>50</sub> sebesar 74,21 ppm. Namun demikian kemampuan antioksidannya masih jauh lebih rendah dari vitamin C yang memiliki harga IC<sub>50</sub> sebesar 3,93 ppm. Kandungan antosianin dalam ekstrak ditemukan sebesar 4,86 ± 0,02 mg/mL. Karena ekstrak metanolik bunga rosella tidak stabil, maka tidak dapat dibuat sediaan krim secara langsung. Oleh karena itu harus dibuat dalam bentuk sediaan liposom terlebih dahulu. Bentuk liposom yang diperoleh ternyata dapat memperbaiki stabilitas antioksidan hingga 10 kali lipat bila dibandingkan dengan stabilitas antioksidan dari ekstrak metanoliknya.

**Kata kunci:** bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), antioksidan, antosianin, DPPH

### **PENDAHULUAN**

Perkembangan kebutuhan kosmetika saat ini semakin bertambah banyak seiring dengan perkembangan pola dan gaya hidup agar tampil lebih atraktif dan percaya diri. Kesadaran untuk tampil lebih sehat menuntut produsen sediaan kosmetika untuk menghasilkan kosmetika yang tidak sekedar mengubah penampilan (dekoratif) tetapi juga kosmetika perawatan, terutama perawatan kulit, salah satunya adalah kosmetika eksfolian dan antioksidan. Berbagai inovasi dikembangkan utamanya pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku kosmetika. Bunga *Hibiscus sabdariffa* L atau sering disebut bunga rosella diketahui memiliki kandungan antosianin (Husada, 2001), sehingga sangat cocok dikembangkan sebagai

bahan baku kosmetika antioksidan (Han *et al*, 2009; Porkony, 2001).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi (Inoue, 2001). Terdapat dua macam antioksidan yaitu antioksidan alami maupun sintesis. Antioksidan ada yang alami maupun sintetis. Antioksidan alami berfungsi sebagai penangkap, penstabil radikal dan peredam oksien singlet (Gordon, 1990). Penangkapan radikal terjadi melalui jalur interaksi antara spesies radikal. Aktivitas radikal bebas tergantung pada struktur kimia senyawa pendukung dan kemampuannya dalam menangkap dan menstabilkannya selama reaksi berlangsung (Yanshileva-Maslarova, 2001; Koleva *et al*, 2001). Senyawa

antioksidan sangat penting artinya sebagai bahan baku kosmetika terutama untuk sediaan kosmetika pencegah penuaan dini. Dengan penambahan antioksidan, maka sediaan kosmetika ini mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh. Seiring dengan pertambahan usia, proses metabolisme

seseorang akan menurun termasuk detoksifikasi radikal bebas dalam tubuh. Bila radikal bebas ini tidak segera ditangkap oleh senyawa antioksidan, maka kerusakan material genetik akan terjadi dan akan berdampak lebih lanjut munculnya kanker.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) kering (digunakan saat optimasi ekstraksi) dan segar (digunakan dalam pembuatan liposom), vitamin C, 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH\*), asam format, etanol pro analisis, methanol teknis, etanol teknis, buffer potassium klorida (KCl) 0,24 N pH 1,0 , buffer sodium asetat (Na asetat) 0,025 N pH 4,5 , asam klorida (HCl) 37% dan asam asetat glacial, kolesterol, buffer posfat yang terdiri dari Natrium klorida (NaCl), Kalium klorida (KCl), Dinatrium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), dan Kalium Dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{HPO}_4$ ), dari Merck, egg lecithin, dan kolesterol dari Sigma Aldrich, akuades dan akuabides. Jika tidak disebutkan lain, bahan-bahan yang digunakan berderajat pro analisis. Bunga rosella segar yang digunakan adalah bagian kelopak bunga (*calyx*) bunga.

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca elektrik (type LS-6DT, SHIMADZU, Japan), rotary evaporator (Heidolph, WB 2000), sonikator Branson 350, Spektrofotometri UV-Vis (Spectronic® 20 Genesys TM), aluminium foil, mikropipet, waterbath, yellow tip, blue tip, cawan porselen, lemari es dan peralatan gelas. Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium analisis farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### Metode

1. Determinasi tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* L )

Determinasi tanaman *Hibiscus sabdariffa* L diperoleh dari daerah Kulon Progo, Yogyakarta dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta. Determinasi tanaman ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi tanaman yang ada di pustaka menurut aturan yang ada. (Van Steenis, 1975).

2. Pembuatan serbuk kelopak bunga rosella

Bunga rosella segar diambil kelopak bunganya lalu dicuci bersih di bawah air mengalir sampai bersih, kemudian kelopak bunga dijemur tidak langsung di bawah sinar matahari dengan dilapisi kain hitam di atasnya, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40-50 C selama 4 jam kemudian dilakukan penyerbukan dengan mesin penyerbuk dan serbuk diayak dengan ayakan no. 20 sehingga diperoleh serbuk halus kelopak bunga rosella.

3. Penentuan pelarut untuk ekstraksi

Dilakukan optimasi pelarut untuk mengekstraksi kandungan senyawa antosianin dan senyawa fenolik lain yang berefek sebagai antioksidan dengan menggunakan perbandingan campuran etanol, metanol dan air sebagai berikut:

- Etanol (100%) – Pelarut I
- Metanol (100%) – Pelarut II
- Metanol (50%): Etanol (50%) – Pelarut III
- Metanol (75%) : Etanol (25%) – Pelarut IV
- Metanol (25%) : Etanol (75%) – Pelarut V
- Akuadest – Pelarut VI

Pembuatan ekstrak kental rosella dilakukan dengan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan cairan penyari (sebagaimana dinyatakan di atas) ditambah asam format 3%.

Sebanyak lebih kurang 25 gram kelopak bunga rosella yang sudah dikeringkan dipersiapkan, kemudian dimaserasi dengan 250,0 ml penyari dalam Erlenmeyer yang tertutup aluminium foil seluruhnya minimal selama 24 jam, disimpan dalam lemari pendingin.

Filtrat disaring menggunakan kertas saring dan ampas diekstraksi kembali dengan mengalirkan cairan penyari sampai filtrat yang dihasilkan memberikan hasil negatif pada uji antioksidan menggunakan DPPH.

Filtrat yang didapatkan kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40<sup>0</sup> C sampai tidak ada lagi pelarut menguap yang menetes dari pendingin.

Dilakukan uji aktivitas antioksidan metode DPPH untuk mengetahui kombinasi pelarut yang menghasilkan aktivitas antioksidan optimal pada ekstraksi kelopak bunga rosella.

Dilakukan pula pengukuran kandungan antosianin total untuk masing-masing jenis pelarut yang digunakan.

#### 4. Analisis kandungan antosianin

Analisis kandungan antosianin dilakukan dengan metode *pH Differential Method* (Giusti *et al*, 2001).

Sejumlah volume tertentu dari ekstrak rosella dilarutkan dalam dua larutan buffer yang berbeda. Larutan pertama dilarutkan dengan 0,025 M buffer KCl pH 1,0 dan larutan lainnya dilarutkan dalam 0,4 M buffer natrium asetat pH 4,5. Jumlah sampel yang digunakan diatur sehingga menghasilkan absorbansi pada  $\lambda_{vis-maks}$  memberikan nilai absorbansi yang berada pada rentang linier dari spektrofotometer.

Larutan didiamkan sampai mencapai kondisi ekuilibrium selama 15 menit pada suhu ruangan, kemudian *scanning* panjang gelombang pada rentang 200nm – 750 nm untuk larutan sampel pada kedua buffer (KCl

dan Natrium Asetat) untuk determinasi kandungan antosianin dan penentuan  $\lambda_{vis-maks}$  pengukuran sampel.

dilakukan pengukuran absorbansi masing-masing larutan dan hasilnya dihitung berdasarkan persamaan berikut.

$$A = (A_{vis-maks} - A_{700nm})_{pH 1,0} - (A_{vis-maks} - A_{700nm})_{pH 4,5}$$

Total monomerik antosianin dari ekstrak kering rosella dihitung sebagai *cyanidine-3-glucoside* berdasarkan persamaan berikut.

$$\text{Monomeric anthocyanin pigment (mg/L)} = [(A \times MW \times DF \times 1000 / (\epsilon) \times 1)]$$

Keterangan:

A: Absorbansi larutan

MW: *Molecular weight* (berat molekul)

DF: *Dilution factor* (factor pengenceran)

$\epsilon$ : Absortivitas molar cyanidine-3-glucoside

Catatan : MW dan  $\epsilon$  yang digunakan terkait dengan antosianin dominan yang terdapat dalam sampel. Digunakan  $\epsilon$  pigmen antosianin dalam larutan asam yang terdapat pada literatur. Jika nilai  $\epsilon$  dari *major pigment* tidak tersedia, atau jika komposisi sampel tidak diketahui, maka pigmen dikalkulasi sebagai cyanidine-3-glucoside, dengan MW = 449,2 dan  $\epsilon$  = 26.900) (Giusti *et al*, 2001).

Pembuatan kurva baku dilakukan antara konsentrasi (dari volume ekstrak yang ditambahkan) terhadap jumlah total monomerik antosianin yang diperoleh berdasarkan persamaan diatas.

#### 5. Uji aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH yang dilaporkan menurut Lukitaningsih (2009). Sebanyak 1,0 mL DPPH 0,4 mM dimasukkan ke dalam labu takar 5,0 mL, ditambah 1,0 mL larutan sampel. Selanjutnya ditambah etanol p.a hingga batas tanda dan diendapkan selama waktu tertentu agar reaksi berjalan sempurna. Digunakan etanol p.a sebagai blanko. Waktu tertentu ini ditetapkan melalui penentuan *operating time*. Dilakukan pula penentuan penentuan aktivitas antioksidan dari arbutin atau vitamin C sebagai pembanding dengan metode dan prosedur yang sama. Absorbansi



larutan dibaca pada panjang maksimal hasil *scanning* panjang gelombang. Aktivitas antioksidan (kemampuan penangkapan radikal) ditampilkan sebagai persentase hambatan berdasarkan persamaan berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A(\text{kontrol}) - A(\text{sampel})}{A(\text{kontrol})} \times 100\%$$

Keterangan

Abs. kontrol : Absorbansi kontrol

(DPPH)

Abs. sampel : Absorbansi larutan uji

Dilakukan regresi linier antara konsentrasi larutan terhadap % inhibisi dan dihitung nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak (dosis yang menghasilkan 50% penangkapan radikal DPPH).

6. Menentukan hubungan antara kandungan antosianin dan daya antioksidan, dilakukan dengan cara membuat kurva hubungan antara kandungan antosianin dan antioksidan kemudian dievaluasi secara statistik

7. Penyusunan formulasi sediaan

Ekstrak bunga rosella ternyata tidak bagus dibuat dalam bentuk krim, sehingga

dibuat dalam bentuk liposom dengan metode fase terbalik sesuai dalam Szoka, dkk, 1978.

- a) Pembuatan liposom metode fase terbalik (*reverse phase*) dilakukan dengan menyiapkan fase lipid yang terdiri dari egg lecithin : kolesterol (1:1) dan fase air yang terdiri dari dapar fosfat dan ekstrak metanol bunga rosella.
  - b) Diambil sebanyak 250 $\mu$ L fase lipid ke dalam labu alas bulat untuk selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 $^{\circ}$ C sampai pelarut organik yang terkandung didalamnya menguap.
  - c) Setelah kering, dilakukan prehidrasi dengan 5 ml akuabidest jenuh nitrogen selama 15 menit.
  - d) Fase air kemudian ditambahkan dan dilakukan sonikasi selama 2-5 menit pada suhu 0-5 $^{\circ}$ C sampai terbentuk satu fase.
  - e) Liposom yang dihasilkan disimpan dalam almari pendingin.
8. Penentuan aktivitas antioksidan dalam sediaan kosmetika (liposom) dikerjakan sesuai prosedur no.5 di atas.

## HASIL DAN DISKUSI

### Determinasi tanaman

Dari hasil determinasi yang dilakukan oleh laboratorium di bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM, diketahui bahwa sampel benar-benar merupakan tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

### Optimasi Ekstraksi

Proses ekstraksi terhadap kelopak bunga rosella dilakukan dengan cara maserasi menggunakan variasi pelarut sesuai dalam cara kerja. Selama maserasi, sampel disimpan pada lemari pendingin. Pada saat proses maserasi dilakukan pula penambahan asam format sebesar 3% v/v. Asam format dimaksudkan untuk menarik antosianin dalam kelopak bunga rosella dan menstabilkannya dalam penyimpanan. Proses ekstraksi dikerjakan berulang kali (4 kali) agar diperoleh rendemen yang banyak.

Dari berbagai kombinasi pelarut yang digunakan pada proses maserasi ini diperoleh hasil bahwa pelarut yang paling optimal untuk ekstraksi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan pada kelopak bunga rosella adalah metanol. Hal ini ditunjukkan oleh kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak metanol kelopak bunga rosella paling tinggi diantara pelarut lainnya setelah dilakukan pengujian dengan metode DPPH untuk 20 mikroliter ekstrak, yaitu menghasilkan penangkapan radikal bebas DPPH sebesar 19,99% ( $\pm 0,0005$ ). Hasil ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi diantara kombinasi pelarut lainnya yaitu etanol sebesar 14,81% ( $\pm 0,0005$ ), Etanol : Metanol (50:50 v/v) sebesar 15,86% ( $\pm 0,0002$ ), Etanol : Metanol (25:75 v/v) sebesar 3,81% ( $\pm 0,0005$ ), Etanol : Metanol (75:25 v/v) sebesar 5,64% ( $\pm$

0,0006), dan akuades sebesar 7,15% ( $\pm$  0,0003). Metanol adalah pelarut dengan polaritas yang cukup tinggi sehingga mampu menyari sebagian besar senyawa kimia yang potensial sebagai antioksidan dalam kelopak bunga rosella. Selain itu metanol memiliki peran protektif, yaitu mampu menghambat terjadinya degradasi komponen fenolik sampel dari enzim pengoksidasi (Harborne, 1999).

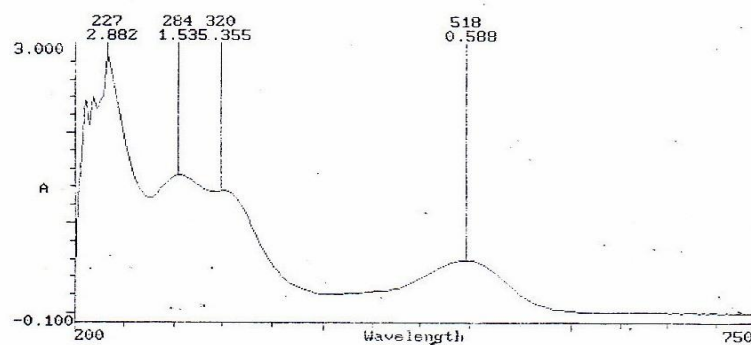
#### Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanolik bunga rosella

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanolik dilakukan dengan metode DPPH dan diperoleh harga  $IC_{50}$  sebesar 74,21 ppm. Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C yang memiliki harga  $IC_{50}$  sebesar 3,93 ppm. Dari nilai tersebut tampak bahwa ekstrak metanolik bunga rosella yang digunakan memiliki aktivitas antioksidan

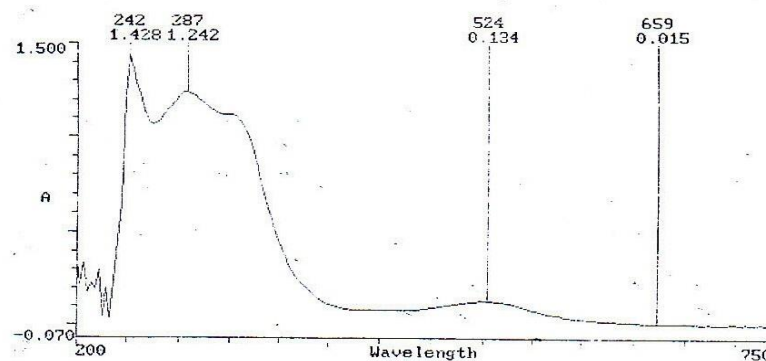
yang cukup poten walau belum melebihi kemampuan antioksidan dari vitamin C.

#### Determinasi kandungan antosianin dalam ekstrak metanolik bunga rosella

Kandungan penting yang terdapat pada kelopak bunga rosella adalah pigmen antosianin yang merupakan golongan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid rosella terdiri flavanols dan pigmen antosianin (Hirunpanich *et al*, 2005). Determinasi dan pengukuran kandungan antosianin dalam ekstrak kelopak bunga rosella dikerjakan seperti dalam metode Giusti *et al*, 2001, yaitu pengukuran dikerjakan pada dua kondisi pH larutan yang berbeda masing-masing pada pH 1 dan pH 4,5. Hasil scanning dapat dilihat pada gambar 1 dan 2, sementara hasil perhitungan kandungan antosianin dapat dilihat pada Tabel I berikut ini.



Gambar 1. Hasil scanning ekstrak metanolik bunga rosella dalam larutan buffer KCl pH 1,0 pada panjang gelombang 200-750 nm



Gambar 2. Hasil scanning sampel dalam larutan buffer KCl pH 4,5 pada panjang gelombang 200-750 nm

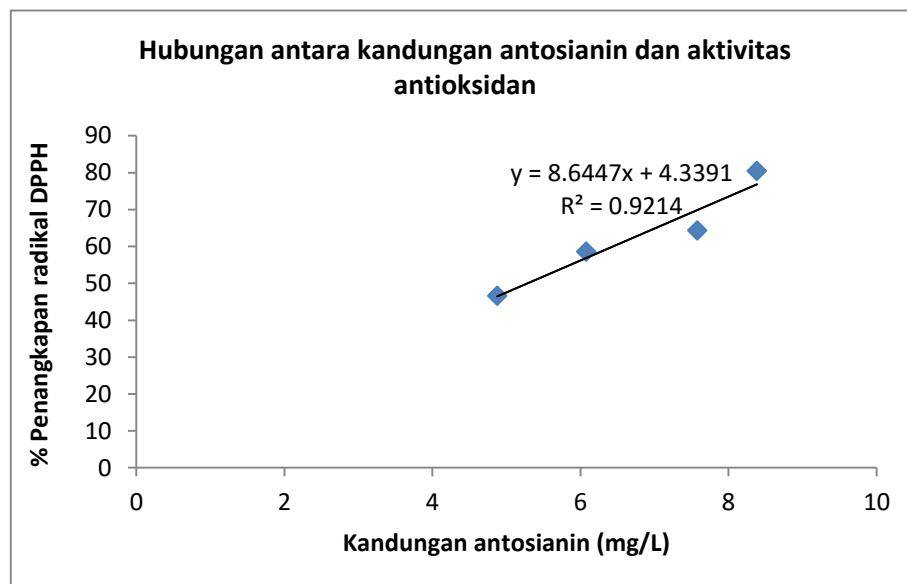
Tabel I. Hasil pengukuran kandungan antosianin dalam ekstrak metanolik bunga rosella

Replikasi	Kadar antosianin (mg/mL)
1	4,8427
2	4,8761
3	4,8594
Rerata	4,8594
SD	0,0167

### Hubungan antara konsentrasi antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella

Dari uji regresi yang dilakukan (Gambar 3) antara variabel bebas (kandungan antosianin) dengan variabel terikat (aktivitas antioksidan) diperoleh nilai linearitas ( $R^2$ ) sebesar 0,9253. Nilai positif menunjukkan bahwa

kandungan antosianin total memiliki pengaruh yang positif terhadap aktivitas antioksidan sampel. Regresi menghasilkan nilai sebesar 0,9253 yang berarti kandungan antosianin total memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Terdapat hubungan erat antara pengertian korelasi dan linieritas.



Gambar 3. Kurva hubungan antara kandungan antosianin dan aktivitas antioksidan

### Pembuatan sediaan kosmetika ekstrak metanolik bunga rosella

Ekstrak metanolik bunga rosella ternyata tidak menunjukkan stabilitas yang cukup baik, sehingga tidak memungkinkan dibuat dalam bentuk krim secara langsung. Oleh karena itu dilakukan pembuatan liposom ekstrak metanolik terlebih dahulu, baru kemudian liposom ini dibuat dalam

bentuk krim. Dengan melaksanakan penelitian sesuai dalam prosedur cara kerja, diperoleh suatu bentuk liposom yang mampu meningkatkan stabilitas ekstrak dilihat berdasarkan perubahan aktivitas antioksidannya. Tabel 2 berikut adalah data perubahan aktivitas antioksidan ekstrak metanolik dan liposom ekstrak metanolik bunga rosella setelah penyimpanan 30 hari.

Tabel 2. Perubahan aktivitas antioksidan ekstrak metanolik bunga rosella dan bentuk liposomnya setelah penyimpanan selama 30 hari pada suhu 4°C.

Bentuk sampel	Aktivitas antioksidan		Keterangan
	Kondisi	Nilai	
Ekstrak metanolik bunga rosella	Awal	38,22 %	Terjadi penurunan <b>11,25 %</b> ; Hasil uji t : <b>berbeda signifikan</b> (t hitung = 4,21)
	Akhir (penyimpanan dingin)	33,92 %	
Liposom dari ekstrak metanolik bunga rosella	Awal		Terjadi penurunan <b>0,93 %</b> ; Hasil uji t : <b>tidak berbeda signifikan</b> (t hitung = 0,15)
	Akhir (penyimpanan dingin)	30,11 %	
		29,83 %	

### KESIMPULAN

Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki kemampuan menangkap radikal DPPH yang cukup baik dengan harga IC<sub>50</sub> sebesar 74,21 ppm. Namun demikian kemampuan antioksidannya masih jauh lebih rendah dari vitamin C yang memiliki harga IC<sub>50</sub> sebesar 3,93 ppm.

Antosianin merupakan senyawa utama yang menentukan aktivitas antioksidan dalam ekstrak metanolik bunga rosella. Kandungan

antosianin dalam ekstrak ditemukan sebesar  $4,86 \pm 0,02$  mg/mL.

Ekstrak metanolik bunga rosella tidak stabil, sehingga tidak dapat dibuat sediaan krim secara langsung, sehingga harus dibuat dalam bentuk sediaan liposom terlebih dahulu. Liposom dapat memperbaiki stabilitas antioksidan ekstrak bunga rosella hingga 10 kali lipat.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bakti Husada. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 2*. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Giusti, M.Monica and Ronald E. Wrolstad, 2001, Characteristic and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., **F1.2.1-F1.2.13**.
- Gordon, M.F., The mechanism of antioxidant action in vitro, In: Hudson, B.J.F. (ed), *Food Antioxidants*, London: Elsevier Applied Science, **1990**, 1-18
- Han, R-M., Tian, Y-X., Chen, C-H., Ai, X-C, Zhang, J-P., Skibsted, L.H., Comparison of flavonoids as antioxidants, *J. Agric. Food Chem.*, **57**, **2009**, 3780-3785
- Harborne, J.B. and Baxter, H., *Handbook of Natural Flavonoids*, 2 vols., **1999**, Wiley, Chichester
- Hirunpanich, V., Utaipat A, Noppawan, P. M., Nuntavan, B., Hitoshi, S., Angkana, H., Chuthamane, S. 2005. *Antioxidant effect of aqueous extracts from dried calyx of Hibiscus sabdariffa linn (roselle) in vitro using rat low-density lipoprotein (LDL)*. *Bio. Pharm. Bull.* 28(3): 481- 484

- Inoue M, 2001, *Protective mechanisms against reactive oxygen species*. In: *Arias IM The liver biology and pathobiology Lippincott Williams and Wilkins 4th-ed*, Philadelphia.
- Koleva, I.I., van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A., Evstatieva, L.N., Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods, *Phytochem. Anal.*, 13, **2001**, 8-17
- Lukitaningsih, E., 2009, The exploration of whitening and sun screening compounds in bengkoang roots (*Pachyrhizus erosus*), Disertasi, Würzburg University, Jerman
- Porkony, J., 2001, Introduction dalam Porkony, J., Yanshilieva, N., and Gordon, M. (Eds) *Antioxidant in food; Practical Applications*, 2, New York: CRC Press
- Szoka, Francis, Jr., and Papahadjopoulos, 1978, Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation, *Proc. Natl. acad. Sci.*, USA, Vol 75, No. 9: 4194-4198
- Van Steenis, C.G.G.J., 1975, *Flora untuk sekolah Indonesia*, Indonesia: Pradnya Paramita
- Yanshilieva-Maslarova, 2001, Inhibiting Oxidation dalam Porkony, J., Yanshilieva, N.

## EFEK DIURETIK DAN DAYA LARUT BATU GINJAL DARI EKSTRAK ETANOL RAMBUT JAGUNG (*Zea mays* L.)

Nessa, Helmi Arifin, Husni Muchtar  
Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

### ABSTRACT

An investigation has been carried out about ethanolic extract of corn silk (*Zea mays* L.) concerning the diuretic effect *in vivo* and solubility of kidney stone *in vitro*. The diuretic effect study used male rats which were divided into 5 groups that consist of 1 positive control (treated with furosemide), 1 negative control (treated with water), and 3 groups treated with ethanolic extract of corn silk in 3 different dosage (125 mg/KBW, 250 mg/KBW and 500 mg/KBW). The rats were treated for 15 days. The urine volume for 24 hours was measured at day 4, 9 and 14, in the meanwhile the urine volume for 2 hours was measured at day 5, 10 and 15. The solubility of kidney stone study used ethanolic extract of corn silk in 3 different concentration (0,5%, 1% and 2%). The data was analysed with ANOVA test followed with Duncan's test. It was found that the urine volume for 24 hours was highly significant influenced by treatment factor and duration of treatment ( $F_c > F_t_{0,01}$ ). While the urine volume for 2 hours was highly significant influenced by treatment factor but it was not significant influenced by duration of treatment ( $F_c < F_t_{0,05}$ ). The solubility of kidney stone was highly significant influenced by treatment factor ( $F_c > F_t_{0,01}$ ). It was concluded that the higher concentration of extract, the higher diuretic effect and solubility of kidney stone.

**Kata kunci:** diuretik, batu ginjal, rambut jagung

### PENDAHULUAN

Ginjal merupakan organ penting pada manusia. Ginjal memiliki banyak fungsi seperti pengatur keseimbangan air, konsentrasi garam dalam darah, keseimbangan asam basa darah, ekskresi bahan buangan dan kelebihan garam (Pearce, 2002). Namun, banyak juga masalah pada ginjal yang mungkin terjadi, antara lain penyakit batu ginjal. Di Indonesia, diperoleh angka prevalensi penderita penyakit batu ginjal sebesar 51,9 per 10.000 penduduk dengan resiko penderita lebih banyak dialami pria daripada wanita dengan perbandingan sekitar 3 : 1. Umumnya penderita pada usia produktif (20-50 tahun), dan hanya sebagian kecil penyakit batu ginjal ini menyerang pada anak-anak (Soenanto, 2005; Soeparman & Waspadji, 1999).

Penyakit batu ginjal merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya sedimen urin dalam ginjal dan saluran kemih (Brown, 1989). Batu tersebut akan lebih

cepat terbentuk apabila urin sangat pekat dan tidak minum cukup banyak air. Keadaan ini akan sangat mendukung kemungkinan terjadinya pengendapan dari sedimen-sedimen yang terdapat dalam urin sehingga lama-kelamaan akan terbentuk suatu massa padat dan keras menyerupai batu (Pramono, 1988). Faktor-faktor yang dapat menyebabkan terbentuknya batu ginjal yaitu tingginya konsentrasi garam-garam yang larut dalam urin, adanya kelainan yang menyebabkan kristal-kristal berkumpul menjadi batu antara lain karena perubahan pH urin, penurunan volume urin, adanya koloid dalam urin, adanya infeksi di ginjal oleh jenis bakteri tertentu yang dapat memicu pembentukan batu ginjal dan terlalu aktifnya kelenjar paratiroid yang dapat menyebabkan kalsium dalam urin (Brown, 1989). Batu ginjal umumnya mengandung unsur kalsium oksalat atau kalsium fosfat, asam urat, magnesium amonium fosfat (MAP), dan

sistin. Batu ginjal mempunyai komponen dasar kalsium 70-80% baik berupa kalsium oksalat, kalsium fosfat maupun campuran oksalat dan fosfat (Purnomo, 2009).

Salah satu tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional yaitu jagung. Bagian dari jagung yang dapat digunakan untuk mengobati gangguan urologis dan berperan sebagai agen diuretik adalah rambut jagung yang biasa dibuat dalam bentuk dekok (Cáceres, *et al.*, 1987). Rambut jagung mempunyai banyak khasiat dalam pengobatan, antara lain dapat menyembuhkan penyakit batu ginjal, nefritis, sistitis, radang, prostatitis, kaliuretik, infeksi saluran kencing, nefrotoksik, depresi (Hasanudin, *et al.*, 2012), hipertensi (Anonim, 1995), hiperglikemia (Guo, *et al.*, 2009), hiperlipidemia (Zhang, *et al.*, 2011), hipokalemia, asam urat (Shamkhy, *et al.*, 2012), hipertiroid (Bhaigyabati, *et al.*, 2012), gonorrhoea dan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antibiotik, antidiabetes dan antitumor (Nessa, *et al.*, 2012).

Rambut jagung mengandung protein, karbohidrat, vitamin B, vitamin C, vitamin K, minyak volatil, besi, silikon, seng, kalium, kalsium, magnesium dan fosfor dan steroid seperti sitosterol dan stigmasterol, alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, antosianin, protokatekin, *vanilic acid*, derivat hasperidin & quersetin (Ebrahimzadeh, *et al.*, 2008),

*chlorogenic acid*, p-kumarin, *ferulic acid*, fitosterol, resin, gula dan allantoin (Nessa, *et al.*, 2012). Ada beberapa kandungan flavonoid yang telah diisolasi dan diidentifikasi dari rambut jagung yaitu apigmayisin, 3-metoksimaysin, maysin, ax-4-OHmaysin, ax5"-metana-3'-metoksi maysin, ax-4"-OH-3'-metoksimaysin, 2"-O- $\alpha$ -L-rhamnosil-6-Cquinovo silluteolin, 2"-O- $\alpha$ -L-rhamnosil-6-Cfukosilluteolin, 2"-O- $\alpha$ -L-rhamnosil-6-C-fukosil-3'-metoksiluteolin, 2"-O- $\alpha$ -L-rhamnosil-6-C-3'-metoksiluteolin, isoorientin-2-2"-O- $\alpha$ -L-rhamnosida, 6,4'-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glukosida dan 7,4'-dihidroksi-3'-metoksiflavon-2"-O- $\alpha$ -L-rhamnosil-6-C-fukosida (Snook, *et al.*, 1995; Hu, *et al.*, 2010; Ren, *et al.*, 2009). Flavonoid dan alkaloid mempunyai efek diuretik yaitu dapat meningkatkan volume urin (Saravanan, *et al.*, 2010). Selain itu flavonoid juga memiliki kemampuan melarutkan kalsium pada batu ginjal (Effendi & Wardatun, 2012).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian efek diuretik dari ekstrak etanol rambut jagung secara *in vivo* pada tikus putih jantan dan daya melarutkan batu ginjal dari ekstrak tersebut secara *in vitro*. Uji daya larut batu ginjal dari ekstrak etanol rambut jagung yang akan dilakukan menggunakan metode titrasi kompleksometri.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Destilasi vakum, rotary evaporator, erlenmeyer, plat tetes, tabung reaksi, timbangan digital, inkubator, kertas PH, corong, kaca arloji, batang pengaduk, labu ukur, *becker glass*, kertas saring, buret dan standarnya, gelas ukur, lumpang dan stamper, krus porselen, oven, desikator, furnace, timbangan hewan, jarum oral, kandang tikus dan kandang metabolit.

### Bahan

Etanol 70 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, serbuk Mg, reagen Mayer, reagen Dragendorff, NH<sub>4</sub>OH 30%, EBT, NaCl, Amonium

Klorida, Na<sub>2</sub>EDTA2H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O, aquadest, NaCl fisiologis, HCl 1N, NaOH 1 N, batu ginjal, ekstrak rambut jagung dan furosemid.

### Hewan Percobaan

30 ekor mencit putih jantan yang berumur lebih kurang 3 bulan dengan berat badan lebih kurang 20-30 gram (belum pernah mengalami perlakuan terhadap obat)

### Cara kerja

#### Pembuatan Ekstrak Rambut Jagung

Sampel rambut jagung dikering anginkan, kemudian dibersihkan dari pengotor. Setelah kering, sampel dirajang halus dan ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam botol maserasi yang berwarna gelap dan direndam dengan etanol 70% dan di simpan di tempat gelap sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari dilakukan penyaringan dan ampasnya direndam kembali. Penyarian ini dilakukan sebanyak 3 kali. Meserat dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya sehingga didapat ekstrak kental etanol rambut jagung. Kemudian hitung randemen yang diperoleh (Anonim, 2000).

### **Karakterisasi Ekstrak Etanol Rambut Jagung**

Karakterisasi ekstrak meliputi: pemeriksaan organoleptis, penentuan rendemen, penentuan susut pengeringan, penetapan kadar abu, serta uji fitokimia untuk flavonoid dan alkaloid.

### **Uji Efek Diuretik Secara *In Vivo* Penyiapan Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih dengan berat antara 500–200 g dan berumur 2–3 bulan. Tikus diaklimatisasi dalam ruangan penelitian lebih kurang satu minggu, selama pemeliharaan tersebut hewan di beri makan dan minum yang cukup. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat yakni berat badan selama aklimatisasi tidak mengalami perubahan yang berarti dan secara visual menunjukkan perilaku yang normal.

### **Perencanaann Dosis**

Dosis yang digunakan untuk pengujian ekstrak rambut jagung sebagai diuretik adalah 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

### **Penyiapan Sediaan Uji**

Ekstrak rambut jagung di timbang berdasarkan konsentrasi masing-masing dosis. Volume sediaan uji yang diberikan secara oral ke dalam tubuh adalah 1% dari berat badan hewan uji sehingga didapatkan

konsentrasi larutan untuk dosis sebesar 1,25%, 2,5% dan 5%.

### **Perlakuan Pada Hewan Percobaan**

- Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol positif dan 1 kelompok kontrol negatif.
- Masing – masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus.
- Kelompok kontrol positif diberikan larutan furosemid dengan dosis 3,6 mg/kgBB secara oral.
- Kelompok kontrol negatif hanya diberikan kontrol pelarut yaitu air.
- Kelompok perlakuan diberikan sediaan ekstrak rambut jagung dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.
- Pemberian sediaan diberikan secara oral dengan volume 1% berat badan, 1 x sehari selama 15 hari.
- Untuk uji 24 jam, dilakukan pengukuran volume urin selama 24 jam pada hari ke-4, 9 dan 14.
- Untuk uji 2 jam, dilakukan pengukuran urin perjam pada tiap interval waktu 0,5, 1, 1,5 dan 2 jam pada hari ke-5, 10 dan 15 setelah pengukuran volume urin 24 jam.

### **Uji Daya Larut Batu Ginjal Secara *In Vitro***

#### **Penyiapan Sediaan Batu Ginjal**

Batu ginjal didapatkan dari pasien Rumah Sakit M. Djamil Padang, kemudian dihaluskan dengan cara digerus dalam lumpang lalu diayak dan diambil serbuk batu ginjal dengan ukuran partikel yang sama.

#### **Penyiapan Sediaan Uji**

Untuk pengujian uji daya larut batu ginjal secara *in vitro* digunakan ekstrak dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 2%.

### **Penyiapan Reagen Kompleksometri**

1. Pembuatan Larutan
  - a) Larutan  $\text{MgSO}_4$  0,05M



- Timbang 12,33 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , larutkan dengan aquadest dalam labu ukur 1L sehingga di dapat larutan dengan volume 1L.
- b) Larutan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  0,05M  
Timbang 18,6 g  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , larutkan dengan aquadest dalam labu ukur 1L sehingga di dapat larutan dengan volume 1L.
- c) Buffer salmiak  
Timbang 7 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , larutkan dengan 30 ml  $\text{NH}_4\text{OH}$  30% dalam labu ukur 100 ml, kemudian dicukupkan sampai tanda batas dengan air suling.
- d) Indikator EBT  
Timbang 100 mg EBT di gerus halus, kemudian ditambahkan 10 g  $\text{NaCl}$  lalu di gerus sampai terbentuk serbuk halus.
2. Pembakuan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  dengan  $\text{MgSO}_4$   
Larutan  $\text{MgSO}_4$  10 ml yang diatur pHnya 9 – 10, di tambah dengan 3 ml larutan buffer salmiak, kemudian tambah 50 mg indikator EBT. Titrasi dengan larutan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  sampai terbentuk perubahan warna merah menjadi biru.
- Penentuan Daya Larut Batu Ginjal**
1. Penentuan Kadar Logam Polivalen Total pada Batu Ginjal
- Masukkan 100 mg serbuk batu ginjal pada labu ukur 100 ml, tambahkan 10 ml  $\text{HCl}$  1 N, kemudian tambahkan 10 ml aquadest.
  - Atur pH menjadi 10, kemudian tambahkan  $\pm 3$  ml buffer salmiak.
  - Tambahkan 50 mg indikator EBT.
  - Tambahkan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  berlebih.
  - Kemudian biarkan, lalu titrasi dengan larutan  $\text{MgSO}_4$  0,05M sampai berubah warna menjadi merah.
  - Hitung mmol  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  yang bersisa.
2. Penentuan Kadar Logam Polivalen yang Larut pada Penambahan Ekstrak Rambut Jagung
- Pengujian dilakukan dengan penambahan ekstrak rambut jagung sebanyak 500 mg, 1 g dan 2 g.
  - Pada labu ukur 100 ml dimasukkan 100 mg serbuk batu ginjal. Kemudian ditambahkan sejumlah ekstrak rambut jagung. Setelah itu, labu ukur 100 ml dicukupkan dengan  $\text{NaCl}$  fisiologis sampai tanda batas.
  - Disimpan dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu  $37^\circ\text{C}$ .
  - Kemudian disaring dengan kertas saring.
  - Filtrat dari masing-masing perlakuan dipipet 10 ml, masukan ke dalam erlenmeyer.
  - Atur pH menjadi 10, kemudian tambahkan  $\pm 3$  ml buffer salmiak.
  - Tambahkan 50 mg indikator EBT.
  - Tambahkan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  berlebih.
  - Kemudian biarkan, lalu titrasi dengan larutan  $\text{MgSO}_4$  0,05M sampai berubah warna menjadi merah.
  - Lakukan titrasi blanko dengan cara yang sama tanpa penambahan batu ginjal.
  - Hitung mmol  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  yang bersisa pada sampel dan blanko.

## HASIL DAN DISKUSI

### Karakterisasi Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays* L)

Karakterisasi ekstrak meliputi pemeriksaan organoleptis, rendemen, susut pengeringan dan kadar abu total. Hasil uji organoleptis dari ekstrak rambut jagung yang

diperoleh yaitu berupa ekstrak kental, berwarna coklat tua kemerahan, berbau khas jagung dan berasa pahit. Rendemen menunjukkan peresentase kadar ekstrak yang diperoleh dari sampel kering yang digunakan untuk pembuatan ekstrak. Persentase rendemen dari ekstrak yang diperoleh yaitu

8,2%. Susut pengeringan menunjukkan jumlah semua bahan yang menguap serta air yang hilang pada kondisi tertentu (Anonim, 1979). Dari hasil pemeriksaan, susut pengeringan dari ekstrak rambut jagung yaitu 21,5867%. Kadar abu total menunjukkan gambaran kandungan mineral internal dan

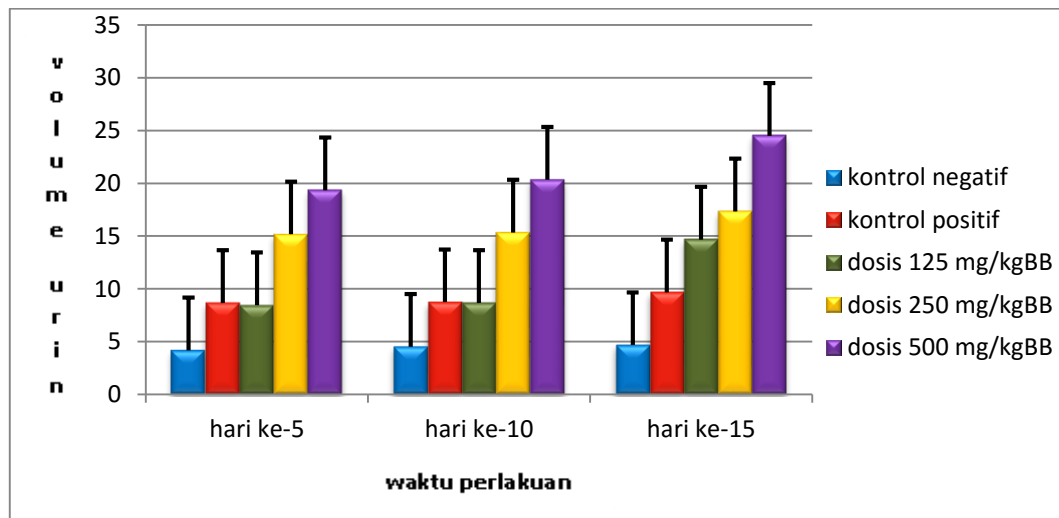
eksternal yang berasal dari proses pembentukan ekstrak. Kadar abu total yang diperoleh sebesar 1,82%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol rambut jagung positif mengandung flavonoid dan alkaloid.

#### Hasil Uji Diuretik Selama 24 jam

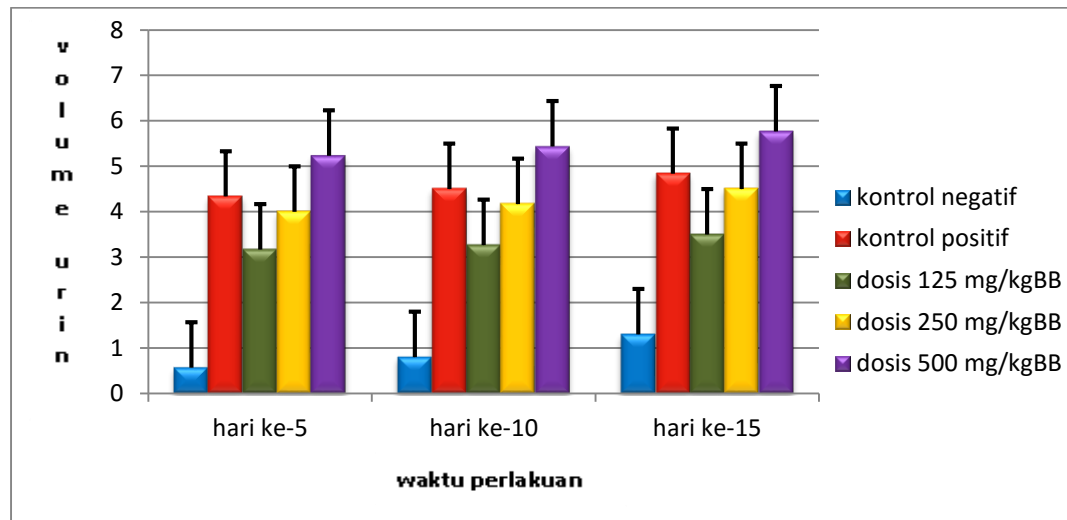
Perlakuan	Hewan Percobaan	Volume Urin 24 jam (ml)		
		Hari ke 5	Hari ke 10	Hari ke 15
Kontrol Negatif	I	4	4	4,5
	II	4	4,5	4,5
	III	4,5	5	5
Mean±SD		4,167±0,289	4,500±0,500	4,667±0,289
Kontrol Positif (Furosemid)	I	9,8	9	12
	II	8,2	8,7	5
	III	8	8,5	12
Mean±SD		8,667±0,987	8,733±0,252	9,667±4,042
Dosis ekstrak rambut jagung 125 mg/kgBB	I	7,8	13	16
	II	12,5	8	16
	III	5	5	12
Mean±SD		8,433±3,789	8,667±4,042	14,667±2,309
Dosis ekstrak rambut jagung 250 mg/kgBB	I	13	17,5	21
	II	13,5	15	16
	III	19	13,5	15
Mean±SD		15,167±3,329	15,333±2,021	17,333±3,215
Dosis ekstrak rambut jagung 500 mg/kgBB	I	22	22	27
	II	19	22	26
	III	17	17	20,5
Mean±SD		19,333±2,517	20,333±2,887	24,500±3,500

**Hasil Uji Diuretik Selama 2 jam**

Perlakuan	Hewan Percobaan	Volume Urin 2 jam (ml)		
		Hari ke 5	Hari ke 10	Hari ke 15
Kontrol Negatif	I	0,4	0,5	1,2
	II	0,5	0,9	1,1
	III	0,8	1	1,6
Mean±SD		0,567±0,208	0,800±0,265	1,300±0,265
Kontrol Positif (Furosemid)	I	5,5	5	5,5
	II	4	4,5	3
	III	3,5	4	6
Mean±SD		4,333±1,041	4,500±0,500	4,833±1,607
Dosis ekstrak rambut jagung 125 mg/kgBB	I	3	3,8	4
	II	4	4	3,5
	III	2,5	2	3
Mean±SD		3,167±0,764	3,267±1,102	3,500±0,500
Dosis ekstrak rambut jagung 250 mg/kgBB	I	3,5	4	4,5
	II	4	4	5
	III	4,5	4,5	4
Mean±SD		4,000±0,500	4,167±0,289	4,500±0,500
Dosis ekstrak rambut jagung 500 mg/kgBB	I	5,5	5,3	5,8
	II	5,2	6	6
	III	5	5	5,5
Mean±SD		5,233±0,252	5,433±0,513	5,767±0,252



Gambar 1. Diagram Batang Hubungan Faktor Perlakuan/Dosis dengan Volume Urin 24 jam pada Tikus Putih Jantan



Gambar 2. Diagram Batang Hubungan Faktor Perlakuan/Dosis dengan Volume Urin 2 jam pada Tikus Putih Jantan

Berdasarkan pengukuran volume urin 24 jam dan 2 jam, diperoleh hasil yang menunjukkan peningkatan volume urin rata-rata selama waktu pengamatan. Semakin tinggi konsentrasi dosis ekstrak rambut jagung yang digunakan, semakin tinggi juga volume urin rata-rata yang didapatkan. Hal ini dapat dibuktikan dari analisis data yang menunjukkan bahwa uji diuretik urin 24 jam dipengaruhi oleh faktor perlakuan (dosis) dan faktor perlakuan waktu secara sangat bermakna ( $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$ ). Begitu juga dengan uji diuretik urin 2 jam yang dipengaruhi oleh faktor perlakuan (dosis) secara sangat bermakna ( $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$ ) tapi tidak dipengaruhi oleh faktor perlakuan waktu ( $F_{hitung} < F_{tabel 0,05}$ ). Selanjutnya dilakukan analisis data lanjutan Duncan yang menunjukan bahwa pada uji diuretik urin 24 jam, masing-masing hasil perlakuan dipengaruhi oleh faktor perlakuan (dosis) dan faktor perlakuan waktu dengan sangat berbeda nyata. Sedangkan pada uji diuretik urin 2 jam masing-masing hasil perlakuan dipengaruhi oleh faktor perlakuan (dosis) dengan sangat berbeda nyata tapi tidak dipengaruhi oleh faktor perlakuan waktu.

Dari hasil pengukuran volume urin pada pengujian terlihat bahwa ekstrak rambut jagung bersifat diuretik. Hal ini dapat dilihat dari volume urin hewan yang diberi ekstrak

rambut jagung lebih besar dari pada volume urin hewan yang hanya diberi air. Pada uji diuretik 24 jam, volume urin rata-rata hewan yang diberi ekstrak rambut jagung dengan konsentrasi 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB lebih besar dibandingkan yang dengan hewan yang diberi furosemid. Pada uji diuretik 2 jam, volume urin rata-rata hewan yang diberi ekstrak rambut jagung dengan konsentrasi 500 mg/kgBB lebih besar dibandingkan yang dengan hewan yang diberi furosemid. Tetapi pada ekstrak rambut jagung dengan konsentrasi 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB, volume urin yang dihasilkan tidak lebih besar daripada furosemid.

Ekstrak rambut jagung dapat menghasilkan efek diuretik yang lebih besar daripada furosemid, namun bekerja dalam jangka waktu yang lambat (uji 24 jam). Sebaliknya furosemid dapat menghasilkan efek diuretik yang lebih cepat pada uji 2 jam dibandingkan konsentrasi ekstrak rambut jagung 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB, tapi tidak menghasilkan efek diuretik yang lebih besar daripada konsentrasi ekstrak rambut jagung 500 mg/kgBB. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak rambut jagung memiliki efek diuretik yang lebih tinggi pada uji 24 jam (subakut) daripada uji 2 jam (akut), dimana dosis efektif ekstrak rambut jagung yang dapat digunakan sebagai

agen diuretik adalah sebesar 500 mg/kgBB (Hasanudin, *et al.*, 2012).

Efek diuretik dari ekstrak rambut jagung diduga karena adanya senyawa-senyawa berkhasiat yang terkandung di dalamnya. Senyawa yang berkhasiat sebagai diuretik yaitu flavonoid. Flavonoid dapat meningkatkan volume urin dengan cara meningkatkan laju kecepatan glomerulus (Jouad, 2001). Selain itu flavonoid dapat menghambat reabsorpsi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  sehingga menyebabkan peningkatan  $\text{Na}^+$  dan air dalam tubulus. Dengan demikian, terjadi peningkatan volume air dalam tubulus dan terjadi peningkatan volume urin. Alkaloid yang terkandung dalam ekstrak rambut jagung juga dapat menyebabkan peningkatan volume urin. Alkaloid bekerja langsung pada tubulus dengan cara meningkatkan ekskresi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ . Dengan meningkatnya ekskresi  $\text{Na}^+$  juga akan meningkatkan ekskresi air dan menyebabkan volume urin bertambah.

Selain flavonoid dan alkaloid, senyawa yang dapat berperan sebagai agen

diuretik adalah kalium. Jumlah kalium yang meningkat didalam darah menyebabkan konsentrasi kalium di tubulus juga meningkat. Hal ini menyebabkan meningkatnya tekanan osmosis di tubulus distal dan tubulus

kolektivus. Sesuai dengan hukum osmosis bahwa air akan bergerak dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi, sehingga tingginya tekanan osmosis di tubulus akan menyebabkan akumulasi air akibat terjadinya retensi ditempat tersebut. Air akan dikeluarkan sebagai urin dan menyebabkan terjadinya peningkatan produksi urin.

Mekanisme efek diuretik dari ekstrak rambut jagung hampir sama dengan furosemid. Furosemid bekerja dengan cara menghambat co-transporter  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  pada lengkung henle asenden sehingga menghambat reabsorpsi  $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$  (Nugroho, 2012).

#### Hasil Uji Daya Larut Batu Ginjal Pembakuan $\text{Na}_2\text{EDTA}$ 0,05 M dengan $\text{MgSO}_4$ 0,05 M

No.	$\text{MgSO}_4$ 0,05M	Volume $\text{Na}_2\text{EDTA}$ yang terpakai (ml)
1	10	10,7
2	10	10,8
3	10	10,7
Volume rata-rata $\text{Na}_2\text{EDTA}$ terpakai : 10,7333 ml		
Molaritas $\text{Na}_2\text{EDTA}$ : 0,0466 M		

#### Penentuan Kadar Logam Polivalen Total dalam 100 mg Batu Ginjal

Volume $\text{Na}_2\text{EDTA}$ berlebih (ml)	Volume $\text{MgSO}_4$ yang terpakai (ml)	Logam polivalen yang terlarut (mg)
25 ml	11,2 ml	24,2 mg

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{mmol } \text{Na}_2\text{EDTA} &= \text{mmol } \text{Na}_2\text{EDTA} (\text{berlebih}) - \text{mmol } \text{MgSO}_4 \\
 &= M \text{Na}_2\text{EDTA} \cdot V \text{Na}_2\text{EDTA} - M \text{MgSO}_4 \cdot V \text{MgSO}_4 \\
 &= 0,0466 \text{ M} \cdot 25 \text{ ml} - 0,05 \text{ M} \cdot 11,2 \text{ ml} \\
 &= 1,165 \text{ mmol} - 0,56 \text{ mmol} \\
 &= 0,605 \text{ mmol}
 \end{aligned}$$

Kadar logam polivalen total (yang dihitung sebagai kalsium) dalam 100 mg batu ginjal =  $0,605 \text{ mmol} \times 40 \text{ mg/mmol} = 24,2 \text{ mg}$ .

**Penentuan Daya Larut Batu Ginjal dengan Menggunakan Ekstrak Rambut Jagung**

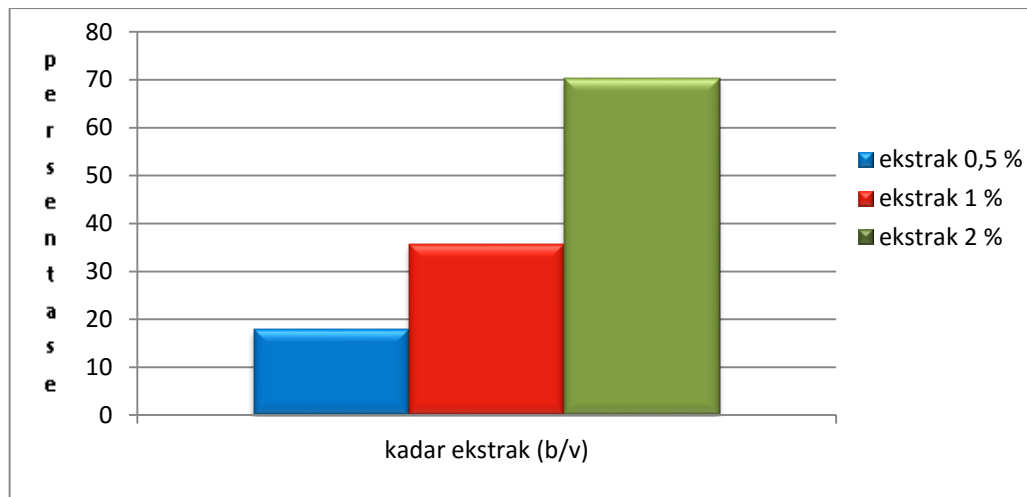
Perlakuan	Pengulangan (n)	Volume Na <sub>2</sub> EDTA berlebih (ml)	Volume MgSO <sub>4</sub> yang terpakai (ml)	Kadar logam polivalen (mg)
Ekstrak 0,5%	1	5	4,2	9,2
	2	5	4,3	7,2
	3	5	4,3	7,2
	<b>Rata-rata</b>	<b>5</b>	<b>4,267</b>	<b>7,867</b>
Ekstrak 1 %	1	5	4,05	12,2
	2	5	4,05	12,2
	3	5	4,05	12,2
	<b>Rata-rata</b>	<b>5</b>	<b>4,05</b>	<b>12,2</b>
Ekstrak 2 %	1	5	3,6	21,2
	2	5	3,6	21,2
	3	5	3,7	19,2
	<b>Rata-rata</b>	<b>5</b>	<b>3,667</b>	<b>20,533</b>

**Hasil Penentuan Kadar Logam Polivalen dalam 100 mg Serbuk Batu Ginjal dengan Penambahan Ekstrak Rambut Jagung**

Perlakuan	Pengulangan (n)	Volume Na <sub>2</sub> EDTA berlebih (ml)	Volume MgSO <sub>4</sub> yang terpakai (ml)	Kadar logam polivalen (mg)
100 mg batu ginjal + ekstrak 0,5%	1	5	4,05	12,2
	2	5	4,05	12,2
	3	5	4,05	12,2
	<b>Rata-rata</b>	<b>5</b>	<b>4,05</b>	<b>12,2</b>
100 mg batu ginjal + ekstrak 1 %	1	5	3,6	21,2
	2	5	3,65	20,2
	3	5	3,6	21,2
	<b>Rata-rata</b>	<b>5</b>	<b>3,6167</b>	<b>20,867</b>
100 mg batu ginjal + ekstrak 2 %	1	5	2,75	38,2
	2	5	2,8	37,2
	3	5	2,8	37,2
	<b>Rata-rata</b>	<b>5</b>	<b>2,783</b>	<b>37,533</b>

### Hasil Penentuan Daya Larut 100 mg Batu Ginjal dengan Menggunakan Ekstrak Rambut Jagung

Pengulangan (n)	Konsentrasi ekstrak (b/v)	Persentase kadar logam polivalen yang terlarut (%)	Rata-rata Persentase kadar logam polivalen yang terlarut (%)
1	Ekstrak 0,5 %	16,529	17,906
2		20,661	
3		16,529	
1	Ekstrak 1 %	37,191	35,813
2		33,058	
3		37,191	
1	Ekstrak 2 %	70,248	70,248
2		66,116	
3		74,380	



Gambar 3. Diagram Batang Hubungan Faktor Perlakuan Dosis dengan Persentase Logam Polivalen Terlarut.

Uji daya larut batu ginjal dari ekstrak rambut jagung menggunakan titrasi kompleksometri tidak langsung. Sebelum dilakukan titrasi, terlebih dahulu dilakukan pembakuan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  menggunakan  $\text{MgSO}_4$ . Pembakuan dilakukan karena  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  adalah larutan baku sekunder

dan  $\text{MgSO}_4$  adalah larutan baku primer. Larutan baku sekunder adalah larutan yang konsentrasinya diperoleh dengan cara mentitrasi dengan larutan baku primer (Khopar, 2002).

Batu ginjal yang digunakan pada penelitian dihaluskan terlebih dahulu menggunakan lumpang dan stamper. Tujuan penghalusan adalah untuk memperbesar luas permukaan batu ginjal sehingga meningkatkan proses pelarutan. Setelah itu serbuk batu ginjal diayak agar besar partikel serbuk seragam dan kelarutan batu ginjal dalam ekstrak rambut jagung merata.

Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar logam polivalen total yang terkandung dalam 100 mg serbuk ginjal menggunakan titrasi kompleksometri tidak langsung. Dari hasil titrasi diperoleh kadar logam polivalen

total sebesar 24,2 mg dalam 100 mg serbuk batu ginjal. Logam polivalen tersebut dihitung sebagai kalsium, baik berupa kalsium oksalat maupun kalsium fosfat.

Konsentrasi ekstrak rambut jagung yang digunakan pada pengujian adalah 0,5%, 1% dan 2%. Kadar logam polivalen dari ekstrak rambut jagung harus ditentukan terlebih dahulu karena adanya kandungan logam di dalam ekstrak akan mengganggu perhitungan jumlah kadar logam polivalen yang terlarut dari batu ginjal. Sebelum titrasi dilakukan, ekstrak rambut jagung dilarutkan dalam NaCl fisiologis sebagai pelarut untuk menyamakan dengan kondisi cairan tubuh. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hal tersebut dimaksudkan agar kondisi pengujian sedapat mungkin dibuat sama dengan kondisi di dalam tubuh karena pada umumnya suhu tubuh manusia normal adalah 37°C. Kemudian dilakukan titrasi dan diperoleh kadar logam polivalen ekstrak rambut jagung pada konsentrasi 0,5%, 1% dan 2% berturut-turut adalah 7,867 mg, 12,2 mg dan 20,533 mg. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak semakin besar kadar logam polivalen yang terkandung di dalamnya.

Setelah itu dilakukan perhitungan kadar logam polivalen pada 100 mg batu ginjal yang telah dicampurkan dengan ekstrak rambut jagung dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 2%. Sebelumnya campuran ini juga dilarutkan dalam NaCl fisiologis dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dari hasil perhitungan diperoleh kadar logam polivalen total berturut-turut sebesar 12,2 mg, 20,867 mg dan 37,533 mg.

Kadar logam polivalen total 100 mg batu ginjal yang terlarut dengan penambahan ekstrak rambut jagung dapat diperoleh dengan cara menghitung selisih kadar logam polivalen total yang terdapat pada ekstrak rambut jagung yang dicampurkan dalam 100

mg batu ginjal dengan kadar logam polivalen total yang terkandung dalam ekstrak rambut jagung. Persentase kadar logam polivalen yang terlarut dalam 100 mg batu ginjal setelah penambahan ekstrak rambut jagung dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 2% berturut-turut adalah 17,906%, 35,813% dan 70,248%.

Dari hasil yang diperoleh pada pengujian daya larut batu ginjal dari ekstrak rambut jagung, didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa persentase kadar logam yang terlarut semakin besar dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Hal ini dapat dibuktikan dari analisis data yang menunjukkan bahwa persentase kadar logam polivalen yang larut dipengaruhi oleh faktor perlakuan (konsentrasi ekstrak) secara sangat bermakna ( $F_{hitung} > F_{tabel 0,01}$ ). Analisis data lanjutan Duncan menunjukkan bahwa masing-masing hasil perlakuan dipengaruhi oleh faktor perlakuan dengan sangat berbeda nyata.

Kemampuan ekstrak rambut jagung dalam melarutkan kalsium pada batu ginjal diduga karena adanya kandungan flavonoid dan kalium yang terdapat di dalamnya (Effendi & Wardatun, 2012). Flavonoid dan kalium diduga dapat menghambat pembentukan kalsium batu ginjal (Sudoyo, *et al.*, 2006). Kalsium pada batu ginjal diduga dapat membentuk senyawa kompleks dengan gugus -OH dari flavonoid sehingga membentuk Ca-flavonoid. Senyawa kompleks ini diduga lebih mudah larut dalam air, sehingga air yang ada dalam urin akan membantu kelarutan batu tersebut. Aktivitas diuretik dari flavonoid dapat membantu pengeluaran batu dari dalam ginjal yaitu dikeluarkan bersama urin, sementara kalium akan berkompetisi dan memisahkan ikatan kalsium dengan oksalat sehingga kalsium batu ginjal menjadi terlarut (Suharjo & Cahyono, 2009).

## KESIMPULAN

1. Ekstrak rambut jagung dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500

mg/kgBB dapat mempengaruhi pengeluaran volume urin. Hal ini



dapat dilihat bahwa pengukuran volume urin 24 jam dipengaruhi oleh faktor perlakuan dan faktor waktu secara sangat bermakna ( $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,01). Sedangkan pada pengukuran volume urin selama 2 jam dipengaruhi oleh faktor perlakuan secara sangat bermakna ( $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,01). Semakin besar dosis ekstrak rambut jagung maka semakin besar pengeluaran volume urinnnya.

2. Ekstrak rambut jagung dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 2% dapat melarutkan logam polivalen. Hal ini

dapat dilihat dari hasil pengukuran daya larut batu ginjal yang dipengaruhi oleh faktor perlakuan secara sangat bermakna ( $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,01). Jadi, semakin besar konsentrasi ekstrak rambut jagung maka semakin besar daya larut batu ginjal.

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan uji daya melarutkan batu ginjal secara *in vivo* dari ekstrak rambut jagung dan pengujian menggunakan sampel rambut jagung dengan varietas yang beragam.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*. (Edisi III). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 1995. *Materia Medika Indonesia* (Jilid VI). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. (Edisi 1). Jakarta: Dirjen POM Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Bassett, J., R.C. Denney, G. H. Jeffery, & J. Mendham. 1994. *Buku Ajar Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*, diterjemahkan oleh Dr. A. Hadyana Pudjaatmaka & Ir. L. Setiono. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Bhaigyabati, T., Ramya, J & Usha, K. 2012. Effect of Methanolic Extract of Sweet Corn Silk on Experimentally Induced Hyperthyroidism in Swiss Albino Rats. *IRJP*. 3 (3).
- Brown, C. B. 1989. *Manual Penyakit Ginjal*, diterjemahkan oleh Moch. Sadikin dan Winarsi Rudiharso, 204-211. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Cáceres, A., Girón, L. M. & Martinez, A. M. 1987. Diuretic activity of plants used for treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*. 19: 233-243.
- Effendi, M. E. & Wardatun, S. 2012. Potensi Sari Buah Semangka Merah (*Citrullus vulgaris rubrum*) Sebagai Peluruh Batu Ginjal Kalsium Oksalat Sacara *In Vitro*. *Ekologia*. Vol. 13 No.1: 6-11.
- Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. & Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*. 32: 43-49.
- Gery, S. 2009. *Farmakologi dan Toksikologi*. (Edisi III). Jakarta: Salemba Medika.
- Gunawan, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. (Edisi V). Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI.
- Guo, J., Liu, T., Han, L. & Liu, Y. 2009. The Effects of Corn Silk on Glycaemic Metabolism. *Nutrition & Metabolism*. 6:47.
- Guyton, A. C. 1976. *Fisiologi Kedokteran*. (Edisi 5). Diterjemahkan oleh Irawati. Jakarta : EGC.
- Guyton, A.C. 1996. *Fisiologi Kedokteran*. (Edisi 9). Diterjemahkan oleh I, Setiawan. Jakarta : EGC.
- Guyton, A. C. and Hall, J. E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. (Edisi 9). Diterjemahkan oleh Irawati. Jakarta : EGC.

- Harjadi, W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Hasanudin, K., Hashim, P. and Mustafa, S. 2012. Corn Silk (*Stigma Maydis*) in Healthcare: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Molecules*. 17. 9697-9715.
- Hu, Q. L., Zhang, L. J., Ding, Y. J. and Li, F. L. 2010. Purification and anti-fatigue activity of flavonoids from corn silk. *Int. J. Physical Sci.* 5(4): 321-326.
- Jouad, H., Lacaille-Dubois, M. A, Lyoussi, B. and Edduks, M. 2001. Effect of The Flavonoids Extract from *Sprengelia purpurea* Pers. On Arterial Blood Pressure and Renal Fuction in Normal and Hypertensive Rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 76:156-163.
- Katzung, B. G. 2001. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Salemba Medika.
- Keeton, W. T. 1980. *Biological Science*. USA: W. W. Norton & Company.
- Khopkar. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar, Azas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Jakarta: UI Press.
- Markham, K. R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Diterjemahkan oleh Kokasi Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB
- Nessa, F., Ismail, Z., Mohamed, N. 2012. Antimicrobial Activities of Extracts and Flavonoid Glycosides of Corn Silk (*Zea mays* L). *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*. 1. 115-121.
- Nugroho, A. E. 2012. *Farmakologi Obat-obat Penting Dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Pearce, E. C. 2002. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT.Gramedia Pustaka Utama.
- Pramono, S. 1988. *Buku Temu Risalah Temu Ilmiah 1987 Fakultas Farmasi UGM*, 341-343. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Price, S. A. and Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses. Penyakit* (Edisi VI). Jakarta: Kedokteran EGC.
- Purnomo, B. B. 2009. *Dasar-Dasar Urologi*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Rivai, H. 1995. *Asas Pemeriksaan Kimia*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Ren, S.C., Liu, Z.L. and Ding, X.L. 2009. Isolation and identification of two novel flavone glycosides from corn silk (*Stigma maydis*). *J. Med. Plants Res.* 32. 1009–1015.
- Saravanan, C., Shanta, K. S., Anandan, R., Narayanaswamy, V. B., Varunraj, S. 2010. Anti-Inflamatory and Diuretic Effect of Plant Extract of *Pseudarthria viscidula* (L) Weight & Arn. *IJRAP*. 1 (2) 506-509.
- Sasmito, Darsono, Kamal, Z., Kristanto, J. 2001. Kemampuan Fraksi Ekstrak Air dan Etil Asetat Daun Benalu Mindi (*Dendrophthoe falcata* L.f Ettingsh) Melarutkan Batu Ginjal Kalsium In Vitro Yang Diuji Dengan Metode Aktivasi Neuron Cepat. *Majalah Farmasi Indonesia*. 12(3),120 – 127.
- Shamkhy, A., Al-Chalabi, R., Al-Amery, H.. 2012. Effect of Corn Silk Extract on Kidney Stone Decomposition in Comparison with Alkalizeragent (uralyte). *Int J Health Nutr*. 3(2): 1-5.
- Sherwood, L. 2001. *Human Physiology: From Cells to System*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Snook, M. E., Widstrom, N. W., Wiseman, B. R., Byrne, P. F., Harwood, J. S., Costello, C. E. 1995. New C-4-hydroxy derivatives of maysin and 3-methoxymaysin isolation from corn silks (*Zea mays*). *J. Agric. Food Chem.* 43: 2740-2745.
- Soenanto, H. 2005. *Musnahkan Penyakit Dengan Tanaman Obat*. Jakarta : Puspa Swara.
- Soeparman & Waspadji, S. 1999. *Ilmu Penyakit Dalam* (Jilid II). Jakarta : Balai Penerbit FKUI.

- Steenis, C. G. G. J. Van. 1975. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M. dan Setiati, S. 2006. *Buku Ajar Penyakit Dalam*, (Edisi IV). Jakarta: PP Departemen Ilmu Penyakit Dalam.
- Suharjo, J.B & Cahyono, B. 2009. *Batu Ginjal*. Yogyakarta: Kanisius
- Zhang, Y., Sui, D. Y., Zhou, J. S. & Zhou, H. L. 2011. Microwave-assisted extraction and antihyperlipidemic effect of total flavonoids from corn silk. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(65), pp. 14583-14586.

## **KAJIAN PROFIL METABOLIT MINYAK ATSIRI TANAMAN JAHE PUTIH BESAR (*Zingiber officinale* Rosc.) YANG DIINTRODUKSI FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA**

**Netty Suharti, Dachriyanus, Abdul Syahriandi**  
*Fakultas Farmasi Universitas Andalas*

### **ABSTRAK**

Tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) merupakan salah satu tanaman rempah dari famili zingiberaceae yang sudah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan makanan, minuman dan obat tradisional. Dalam bidang Farmasi tanaman jahe memiliki banyak aktivitas seperti antiinflamasi, antioksidan, antibakteri dan karminatif, yang berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya. Telah dilakukan analisis metabolit tanaman jahe putih besar yang diintroduksi Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) dibandingkan dengan tanaman kontrol (tanpa FMA). Hasil destilasi secara uap dan air terhadap rimpang tanaman jahe berumur 9 bulan diperoleh kandungan minyak atsirinya 0.22-0,25 % pada tanaman yang diintroduksi FMA dibanding tanaman kontrol yaitu 0,12 %. Hasil analisis minyak atsiri menggunakan Gas Chromatography Mass Spectra (GC-MS), pada tanaman yang diintroduksi FMA terdeteksi 143 komponen kimia dibanding tanaman tanpa introduksi yaitu 91 komponen kimia. Komponen kimia utama yang teridentifikasi dari masing-masing rimpang jahe tersebut adalah z-citral, cineol,  $\alpha$ -kamfren, 2,6 oktadienol,  $\alpha$ -zingiberol, shogaol dan curcumen, pinen dan palendren.

Kata kunci : Tanaman Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.), FMA, minyak atsiri.

### **PENDAHULUAN**

Jahe merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai ramuan obat-obatan bahan makanan dan minuman. Khasiat jahe yang telah diketahui sebagai obat yaitu sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, antipiretik, anthelmintik, mengobati masuk angin, flu, batuk, panu, gatal-gatal dan rematik (Revindran and Babu, 2005). Aktivitas rimpang jahe sebagai tanaman obat berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya seperti oleoresin ( 3-5% ) dan minyak Atsiri ( 1-3% ) (Winarti,2000). Jahe juga mengandung berbagai jenis senyawa fenolik seperti gingerol, zingiberol yang berasa pedas, shogaol dan paradol, senyawa tersebut dilaporkan mempunyai efek sebagai antioksidan, anti tumor dan anti proliferasi (Shukla, and Singh 2007).

Salah satu cara untuk meningkatkan metabolit sekunder yang aman, murah dan ramah lingkungan adalah dengan

menggunakan agen hayati Fungi Mikoriza Arbuskula ( FMA). Fungi ini mempunyai kemampuan untuk berasosiasi dengan hampir 90% jenis tanaman, serta telah banyak dibuktikan mampu memperbaiki nutrisi dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Yadi,2007). Keuntungan yang diharapkan dari pemanfaatan cendawan ini berkaitan dengan pertumbuhan, kualitas dan produktivitas metabolit sekunder dari tanaman jahe. menyatakan FMA dapat membantu akar tanaman dalam menyerap unsur hara makro dan mikro terutama fosfat (mekanismenya terjadi peningkatan permukaan absorpsi, kerja enzim fosfatase dan enzim oksalat) (Husna, Tuheteru, dan Mahfudz 2007).

Berdasarkan keunggulan dan manfaat dari FMA telah dilakukan serangkaian penelitian menginduksikan tanaman Jahe dan menganalisis profil metabolit yang dihasilkan tanaman. Dengan harapan

terjadinya peningkatan secara kuantitatif metabolit sekunder terutama minyak atsiri dari tanaman jahe dibanding tanaman kontrol. Untuk mengetahui profil kimia

minyak atsiri yang dihasilkan kedua macam tanaman jahe digunakan GC-MS, karena sifat dari minyak atsirinya yang volatil.

## METODE PENELITIAN

### 1.1 Bahan dan Alat

Bahan bahan yang digunakan adalah rimpang Jahe putih besar yang diintroduksi FMA dan tanpa introduksi FMA (control) masing-masing sebanyak 1kg, air suling, methanol, n-hexan, etil asetat, butanol.

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat destilasi, pemanas listrik, timbangan, pipet tetes, pipet tetes, gelas ukur 10 ml, corong pisah, vial 10ml, pisau seperangkat GCMS.

### 1.2 Cara Kerja

#### 1.2.1 Sampel Rimpang Tanaman Jahe

Rimpang jahe yang sudah berumur 9 bulan dipanen, bersihkan dari tanah, di cuci bersih timbang berat awal jahe. Jahe di iris tipis dengan ketebalan 4-5 mm dan di kering anginkan. Sampel rimpang jahe dengan kedua cara budidaya kemudian diisolasi minyak atsirinya secara destilasi uap.

#### 2.2.2 Analisa kandungan minyak atsiri

##### a. Destilasi

Minyak Atsiri di isolasi dengan menggunakan prinsip destilasi uap. Sebanyak 1 kg rimpang jahe segar dimasukkan kedalam labu destilasi yang telah diisi dengan air suling. Proses destilasi dilakukan secara kontinue selama 8 jam, sebanyak 1 kg yang telah diiris tipis dimasukkan kedalam alat destilator, kemudian ditambahkan 4 l air suling, dengan temperature 100° C. Setelah proses destilasi selesai, minyak pada buret di tampung.. Minyak atsiri di tambahkan dengan natrium sulfur anhidrat untuk membebaskan air (Azizah, 2009).

### 2.2.3 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi pemeriksaan warna, bau dan rasa. Pemeriksaan warna dilakukan dengan cara melihat langsung minyak atsiri secara visual. Pemeriksaan bau dilakukan dengan cara mencium minyak atsiri di atas kertas saring. Pemeriksaan rasa dilakukan dengan cara mengecap minyak atsiri.

### 2.2.4 Pengujian kandungan minyak atsiri

Analisis kandungan kimia minyak atsiri dari tanaman jahe menggunakan GCMS. Caranya: diinjeksikan larutan minyak atsiri dalam heksan 1µl kedalam *injektion port* pada suhu 100°C, suhu detektor 125°C, suhu kolom 70-80°C. Kemudian dilakukan proses elusi dengan face gerak helium (2 ml per menit), detektor spektroskopi masa, kemudian suhu *injektion port* dinaikkan secara bertahap 50°C per menit. Kemudian didapat kromatogram pemisahan komponen minyak atsiri dan data dari spektrum masa setiap puncak, dibandingkan dengan data spektrum masa dari data base pada GC-MS, sehingga tiap puncak merupakan fragmen-fragmen dari komponen minyak atsiri (Azizah, 2009).

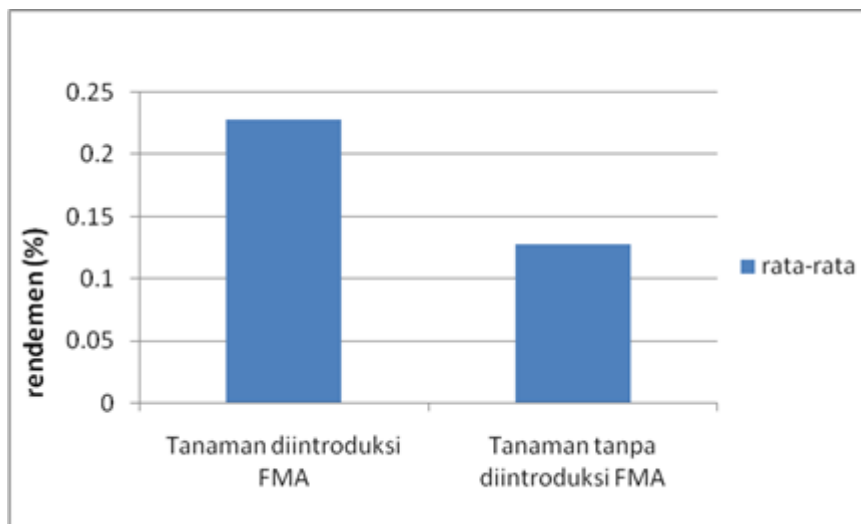
### 2.2.5 Anlisa Data

Untuk menganalisa komponen minyak atsiri digunakan alat GC-MS. Data yang diperoleh dari GC-MS di bandingkan antara jahe bermikoriza dengan yang tidak bermikoriza.

## HASIL DAN DISKUSI

Hasil destilasi secara uap air diperoleh minyak atsiri 0,25 dari rimpang jahe yang diintroduksi FMA dan 0,12 pada tanaman

kontrol (Gambar 1.), dengan warna kecoklatan, bau khas jahe.



Gambar 1. Rendemen minyak atsiri rimpang tanaman jahe

Hasil analisis dengan GCMS memperlihatkan kandungan senyawa kimia minyak atsiri tanaman jahe dipengaruhi oleh introduksi FMA, dengan jumlah komponen kimia yang terdeteksi sebanyak 143 dibanding tanpa introduksi FMA dengan 91 jenis senyawa kimia. Dari hasil kromatogram yang diperoleh menunjukkan pemisahan yang baik. Masing-masing senyawa yang teridentifikasi dipisahkan berdasarkan persen area dibandingkan seluruh senyawa yang terdeteksi. Senyawa gingerol, limonene, Sesquisabinene, fernenen dan Isobornyl acetate hanya teridentifikasi pada tanaman jahe yang diintroduksi FMA dan tidak ditemukan pada tanaman kontrol.

Keberadaan senyawa tersebut merupakan profil dari metabolit minyak atsiri dari tanaman jahe yang diintroduksi FMA. Senyawa shogaol pada tanaman jahe yang diintroduksi FMA terdeteksi dengan persen luas area 0,15 dibanding tanaman tanpa diintroduksi FMA (kontrol) yaitu 0,08 (Tabel 1.). Kajian terhadap profil senyawa kimia merupakan bagian analisis metabolisme untuk memperoleh profil hasil metabolisme dari sel dan jaringan. Penggunaan profil metabolit dapat digunakan pada berbagai bidang ilmu untuk mendeteksi perubahan fisiologis yang dipengaruhi oleh aktivitas enzim yang terjadi dalam sel/jaringan secara keseluruhan termasuk sel tumbuhan.

Tabel 1. Komponen kimia utama minyak atsiri tanaman jahe yang diintroduksi FMA dan kontrol.

Senyawa kimia	Puncak ke	% luas area	Puncak ke	% luas area
	Jahe diintroduksi FMA		Jahe tanpa introduksi FMA	
Paradol	138/ 139/ 142	0,08/ 0,15/ 0,05	110	0,03
Ginggerol	142	0,05	-	-
Sesquisabinene	89	1,45	-	-
Farnesen	68/ 69/ 75/ 91/ 102	0,01/ 0,15/ 2,67/ 2,39/ 0,18	-	-
Isobornyl acetate	139	0,33	-	-
Limonen	49/ 52/ 63	0,85/ 0,54/ 196	-	-
bornyl acetate	-	-	45/ 23	0,39/ 0,08
lineol	-	-	16	3,90
Shogaol	139	0,15	111	0,08
Isoborneol	44/ 108	0,19/ 0,16	23/ 30	0,08/ 0,13
Borneol	46/ 47	1,82/ 0,15	30/ 31	0,13/ 2,78
Camphene	42	0,18	28	0,14
Cymene	14/ 101	0,13/ 0,11	130	0,04
Curcumen	72/ 128	2,89/ 0,03	62/ 106	2,62/ 0,08
elemen	95	0,90	54/ 77/ 86	0,16/ 0,26/ 0,81
Linolool	30/ 34/ 118/ 124	0,02/ 1,81/ 0,04/ 0,01	22	1,87
Myrcene	18/ 34/ 122/	1,14/ 1,81/ 0,05	22-Nov	1,32/ 1,87
Pinen	10/ 20/ 22/ 27/ 33	0,14/ 0,07/ 7,49/ 0,07/ 0,46/	5/ 6/ 13/ 15/ 26/ 37	0,10/ 1,79/ 0,05/ 6,01/ 0,07/ 0,15
Terpinen	21	0,04	32	0,53

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Introduksi FMA pada tanaman jahe dapat meningkatkan rendemen minyak atsiri yang dihasilkan dibandingkan tanaman tanpa diintroduksi FMA (kontrol)
2. Diperoleh komponen kimia minyak atsiri yang berbeda baik jenis maupun jumlah dari rimpang tanaman jahe yang diintroduksi dengan FMA dibanding tanaman tanpa diintroduksi FMA (kontrol).

## DAFTAR PUSTAKA

- Budidaya Tanaman Obat-Obatan (seri A) Direktor Bina Produksi Hortikultura Direktorat Jendral Tanaman Pangan dan Hortikultura, 1994, Jakarta
- "Ginger Action and Uses", diambil dari: [http:// www. Mdidea.com/pruducts/ Zingiber officinale](http://www.Mdidea.com/pruducts/Zingiber officinale), 2007
- Ravindran, P.N., Babu, K.N. 2005. *Ginger The Genus Zingiber*. CRC Press : New York.
- Winarti, C. dan Nanan Nurdjanah, "Peluang Tanaman Rempah dan obat sebgai Sumber pangan fungsional", Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor, 2000.
- Suharti, N 2009. *Interaksi Rizobakteria dan FMA dalam Menginduksi ketahanan tanaman jahe terhadap Ralstonia solanacearum ras 4 serta peningkatan senyawa metabolit sekunder*. (Tesis) Padang: Universitas Andalas.
- Shukla, Y., Singh, M. 2007. Cancer Preventive Properties of Ginger : A Brief Review. *J. Food Chem Toxicol*, 45 (5), 683-690.
- Husna, Tuheteru F.D., dan Mahfudz (2007). *Aplikasi mikoriza untuk memacu pertumbuhan jati di Muna*, 5,1,1.
- Setiadi Y. 2007. Bekerja dengan mikoriza untuk daerah tropik. Makalah ini disampaikan dalam workshop percepatan Sosialisasi Teknologi Mikoriza Untuk Mendukung Revitalisasi Kehutanan, Pertanian Dan Perkebunan, Bogor
- Azizah, A. 2009. *Uji Antioksidan Minyak Atsiri biji Zingiber Rubens ROXB serta analisa komponennya dengan metoda GC-MS*. Universitas Andalas Padang



